黑龙江省教育厅人文社科资助项目
哈尔滨师范大学优秀教材出版基金资助项目

细胞与分子免疫学基础

刘玉芬　主编

東北林業大學出版社

责任编辑：付　佳　倪乃华
封面设计：彭　宇

ISBN 978-7-81131-514-1
9 787811 315141 >
定价：28.00 元

黑龙江省教育厅人文社科资助项目
哈尔滨师范大学优秀教材出版基金资助项目

细胞与分子免疫学基础

刘玉芬　主编

东北林业大学出版社

图书在版编目（CIP）数据

细胞与分子免疫学基础/刘玉芬主编. —哈尔滨：东北林业大学出版社，2009.7

ISBN 978-7-81131-514-1

Ⅰ. 细… Ⅱ. 刘… Ⅲ. ①细胞学：免疫学②分子免疫 Ⅳ. R392.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2009）第 116688 号

责任编辑： 付 佳 倪乃华

封面设计： 彭 宇

NEFUP

细胞与分子免疫学基础

Xibao Yu Fenzi Mianyixue Jichu

刘玉芬 主编

东北林业大学出版社出版发行

（哈尔滨市和兴路 26 号）

哈尔滨骅飞印务有限公司印装

开本 787 × 960 1/16 印张 13 字数 233 千字

2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月第 1 次印刷

印数 1—1 000 册

ISBN 978-7-81131-514-1

定价：28.00 元

《细胞与分子免疫学基础》编委会

主　编：刘玉芬

副主编：孙玉刚　马晓春　刘荣焱

参编人员：

刘玉芬　（哈尔滨师范大学生命科学与技术学院）

孙玉刚　（哈尔滨师范大学生命科学与技术学院）

马晓春　（哈尔滨师范大学教务处）

刘洪雨　（黑龙江省动物卫生监督所）

刘荣焱　（秦皇岛市中医医院骨科）

唐丽杰　（东北农业大学生命科学学院）

姚　欣　（哈尔滨师范大学生命科学与技术学院）

高　洋　（哈尔滨师范大学生命科学与技术学院）

前　言

免疫学发展十分迅速，已经成为生物学和医学领域中一门独立的学科，而且已经渗透到生命科学的许多学科中。哈尔滨师范大学生命科学与技术学院在1996年设立了非师范专业——生物技术专业，该专业主要面向生物制药行业。因此免疫学教学也适应该专业的发展成为重要的专业基础课。以往我们主要采用医学院校的免疫学教材进行教学，医学院校的教材主要面对临床、预防、护理等专业的医学学生，而我们的学生只具有普通的生物学基础，在此基础上，编写一本适应高等师范类院校生物技术专业特点的免疫学教材已经成为迫在眉睫的要求。我们结合专业特点，编写了这本《细胞与分子免疫学基础》，既考虑到为学生提供基础免疫学理论知识，又要反映免疫学的发展需求，加入分子免疫学的部分内容，同时考虑到学生将来就业的方向，联系实践，加入一部分临床免疫学内容。因此本书除可以作为生物学领域的本科生教材外，还可以作为研究生及相关专业人员的参考书。

本书在编写过程中获得了哈尔滨师范大学的优秀教材出版基金资助，使得该书得以及时地出版，在此表示感谢。全书由刘玉芬总体设计并拟定了各章节的内容。编写分工如下：刘玉芬、唐丽杰承担第一篇的编写工作；刘玉芬、孙玉刚承担第二篇的超敏反应、肿瘤免疫、移植免疫和免疫缺陷性疾病的编写工作；刘玉芬、刘洪雨承担第三篇的编写工作。刘玉芬、马晓春和刘荣焱承担本书的插图绘制和图表制作工作。此外，本教研室的研究生姚欣、高洋也在本书的撰写和校对工作中投入了很大的精力，在此一并表示感谢。

面对日新月异的免疫学发展的理论和技术，编者在编写过程中深感知识水平的不足，所以书中不可避免地会有不尽人意之处，望广大读者提出宝贵的意见和建议。

编　者

2009年1月

目 录

第一篇 免疫学基础

第二篇 临床免疫学

第三篇 免疫学检测技术

第一篇　免疫学基础

本篇主要讲述免疫学的基础知识，包括细胞免疫学知识，也包括分子免疫学的内容。本篇内容会使我们对免疫系统的基本内容有初步的了解，可以对常见的免疫学现象进行解释。

第一章 免疫学概论

免疫学最早是从研究人体抵御传染性疾病的免疫现象开始的，因此最早免疫学属于微生物学的研究范围，一个分支。但自20世纪60年代以来其在理论和实践上都有了一个飞跃的发展，免疫现象不单纯指病原微生物入侵后机体的抗性反应，也包括了机体对外源非己的物质产生的应答以及机体免疫系统紊乱的情况下出现的一系列变化，其研究范围已涉及整个生命科学领域，它把生物化学、分子生物学、细胞生物学以及遗传学等多个学科在免疫研究基础上联系起来，因此免疫学成为了一门独立的、新兴的学科，它的研究也出现了许多分支，例如遗传免疫学、肿瘤免疫学、移植免疫学临床免疫学等。

传统上免疫学主要研究机体免疫系统的组织结构和生理功能，免疫系统的重要生理功能就是识别“自己”和“非己”抗原并产生应答反应。在免疫功能正常的条件下，免疫系统对“非己”抗原产生排异反应，发挥保护机体的作用（如抗感染免疫和抗肿瘤免疫）。如果免疫功能失调，免疫应答反应可造成机体组织损伤，产生一系列与免疫相关的疾病。当代免疫学研究中的重要领域还包括运用免疫学理论和方法对相关疾病进行预防、诊断及治疗。人类应用免疫学方法预防传染病的历史悠久，最早可以追溯到16世纪中国医学家用人痘苗预防天花的伟大实践。此后，免疫学历经了多个发展时期而不断发展壮大起来。

第一节 免疫的基本知识

免疫学是从微生物学中独立出来的，在100多年来的发展变化也使得免疫（Immune）的概念经历了一系列的变化过程。在Jenner和Pasteur的古典免疫时期，免疫指的是机体对病原微生物的抵抗力、对同种微生物再感染的特异性防御能力。但随着免疫学的发展和不断的研究证实，很多免疫现象（如过敏反应、动物的血型、移植排斥反应、自身免疫病等）均与微生物的感染无关。因此，现代免疫的概念已逾越了抵抗微生物感染这个范畴，是指机体对自身和非自身物质的识别，清除非自身的物质，从而保持机体内外环境平衡与稳定的生理学反应。而且这种功能的获得也可以从两个方面探讨，

一方面是机体具有天然的防御屏障，即皮肤、黏膜屏障和血脑屏障等，这些属于非特异性免疫范畴；另一方面可以从后天接触外来物质后获得，属于获得性免疫，也就是本书后面章节要讲述的特异性免疫。机体发挥免疫功能的组织器官是免疫系统，免疫系统是动物在长期进化过程中不断与自身内、外敌人相斗争而形成的一种防御系统，它对进入体内的非自身物质产生特异性免疫应答，从而使机体获得特异性的免疫能力而维持自身稳定。

一、免疫的基本特征

免疫的发生和外来物质相关也和机体的内部因素相连，二者协同促使机体发生一系列反应。研究表明免疫的基本特征主要体现在四个方面：识别自身与非自身（Recognition of self and nonself）、特异性（Specificity）、免疫记忆（Immunologicalmemory）和耐受性（Tolerance）。

（一）识别自身与非自身

机体产生免疫应答的基础就是识别自身和非自身的大分子物质。对自身的物质不产生免疫应答，而对外来的抗原物质产生免疫应答而清除掉，这种识别特性实际上属于机体的“排他性”。动物机体识别的物质基础存在于免疫细胞，即 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞膜表面的抗原受体，受体识别并能与一切大分子抗原物质的抗原决定簇结合。机体的这种免疫识别功能是非常精确的，不仅能识别存在于异种动物之间的一切抗原物质，即使对存在细微差别的同种动物不同个体之间的组织和细胞也能够识别。因此出现同种动物不同个体之间组织移植的排斥反应。

免疫系统的识别功能对保证机体的健康是非常重要的，若识别功能降低就会导致对非己物质的宽容，从而降低或丧失对病原微生物或肿瘤的防御能力，造成识别功能紊乱，如若把自身的组织或细胞当作了非己物质，还可引起自身免疫疾病。

（二）特异性

机体的免疫应答和由此产生的免疫力具有高度的针对性，免疫活性细胞以及抗体分子只能与刺激它产生的抗原物质起反应，与其他种抗原不发生反应（如接种乙型肝炎疫苗可使人体产生对乙型肝炎病毒的抵抗力，而对其他病毒的入侵无抵抗力）。

（三）免疫记忆

也称为记忆性，该功能也是免疫的基本特征之一，如果机体对某一抗原物质或疫苗产生免疫应答反应，则体内能够产生抗体，经过一段时间之后这种抗体消失，但免疫系统却保留了对该抗原的记忆，即形成了特异性记忆的

免疫活性细胞，因此用同种抗原物质或疫苗加强免疫时，机体的免疫活性细胞可以迅速大量增殖、活化和分化，产生比初次接触该抗原时还要多的抗体，该种现象表明了机体具有免疫记忆能力。细胞免疫同样具有免疫记忆能力。机体患某种传染病康复后或用疫苗接种后之所以可使机体长期具有免疫力，就是由于具有免疫记忆的能力。免疫记忆功能主要是由于机体形成了免疫记忆细胞，其可对再次接触的抗原物质产生更快的免疫应答反应。

(四) 耐受性

机体免疫系统对接触的某些抗原物质不发生应答反应或者低应答性，但是对其他抗原物质的应答能力仍保持正常。1945 年，Owen 发现的异卵双生牛可以接受对方皮肤移植而不发生排斥现象就属于首次发现的天然耐受现象，机体的自身组织成分通常不发生免疫应答，这是最常见的天然免疫耐受现象。免疫耐受在理论和医学实践中都具有重要的意义，某些疾病的发生如自身免疫性疾病就是由于对自身的成分耐受终止，被破坏而导致疾病的出现。

二、免疫的基本功能

免疫系统识别和清除外来抗原物质时所表现出来的各种生物学效应的总和，我们称之为免疫的功能，免疫功能正常，机体会维持内外环境的稳定，而一旦出现异常，则会导致一系列疾病的出现。总而言之，免疫系统的功能可以从三个方面来理解，表 1－1 列出了免疫功能的正常和非正常表现。

表 1－1 免疫系统三大功能的表现

免疫的功能	正常功能	非正常功能
免疫防御	主要指抗感染作用	超敏反应和免疫缺陷
免疫稳定	免疫系统内部或者与其他系统之间的平衡	自身免疫性疾病
免疫监视	清除癌变、衰老的细胞	肿瘤出现或者反复病毒感染

(一) 免疫防御 (Immunologic defence)

即是指抵抗感染的功能。它是指机体抵御病原微生物的侵袭、感染的能力。在机体免疫功能正常时，能够对从呼吸道、消化道、皮肤和黏膜等途径进入机体内的各种病原微生物的产生抵抗能力；但若免疫功能异常亢进时，则可导致传染性变态反应；若免疫功能低下或者缺陷，则可引起机体的反复感染。

(二) 免疫稳定 (Immunologic homeostasis)

机体每天进行新陈代谢的同时，都有大量的细胞衰老及死亡，如果这些

细胞积累在体内就会影响正常细胞的功能。那么免疫系统能够把这些细胞清除出体内，以维护机体内的生理平衡，免疫的这种功能就称为自身稳定。但是若此功能异常亢进，使机体产生过多的自身抗体，危及到自身正常细胞的活动时会引起自身免疫性疾病的发生。

（三）免疫监视（Immunologic surveillance）

机体内的正常细胞常在物理、化学和病毒等致癌因素的诱导下而突变为肿瘤细胞，但机体免疫功能处于正常时可对这些肿瘤细胞加以识别，调动一切免疫因素将这些肿瘤细胞清除掉，这种功能即为机体的免疫监视功能。若此功能低下或抑制就会导致肿瘤细胞的大量增殖，使机体发生肿瘤。由此可见，增强机体免疫功能、保持机体健康是抑制肿瘤发生的有效方法之一。

第二节 免疫学发展简史

免疫学的发展最初反映了人类与疾病斗争的过程，这一过程是人们在实践中逐渐探索出来的，从最初的 Jenner 发明牛痘苗预防人类天花开始。但是近几十年来，免疫学发展的广度和深度都与它的初始状态相差甚多，已经深入发展到分子水平，当代众多学科发展中免疫学知识的运用就完全体现出这门学科在生命科学领域中的重要地位。纵观免疫学的发展过程，我们将其历史大致划分为四个阶段。

一、经验免疫学时期的诞生

免疫学最初阶段主要集中于人类与传染性疾病的斗争，人们发现，许多疾病感染之后不会再次感染，例如天花、麻疹和腮腺炎等。所以这一阶段主要贡献集中在 16～17 世纪，为免疫学经验时期。我国医学家在长期实践的过程中对天花病的预防和治疗积累了丰富的经验，在 15 世纪就创造性地发明了用人痘痂皮预防天花病的方法，到 17 世纪已在我国推广应用，这是人类认识机体免疫功能的开端。我国采用的人痘苗预防天花的方法在 18 世纪初被 Wortley Montague 引入欧洲，并很快地传入到了其他国家，为以后英国医生 Jenner 发明牛痘苗和法国免疫学家 Pasteur 发明减毒疫苗提供了宝贵经验。

二、经典免疫学时期的开拓

经典免疫学时期起始于 18 世纪末至 20 世纪中期，继人痘苗出现之后，免疫学便步入了经典免疫学时期。这一时期，人们对免疫功能的认识逐渐从

人体现象的观察深入到了科学实验时期。此时期内的主要成就有：

（一）牛痘苗的发明

免疫学的一项重要成就为牛痘苗的发明。牛痘苗是英国医生 Jenner 发明的，他观察到挤奶女工患过牛痘后不再易得天花病的现象后，通过长期对牛痘苗进行人体实验，最终证实了接种牛痘苗后可以预防天花病。Jenner 于 1793 年发表了他的牛痘苗著作，这也为人类传染病的预防开创了人工免疫的先声，所以我们往往将 1798 年定为免疫学开创年。牛痘苗不但弥补了人痘苗的不足，并且可由实验室大量生产出来，于 1804 年传入我国后便很快代替了人痘苗的应用。

（二）减毒疫苗的发明

在牛痘苗发明之后，免疫学的发展在将近一个世纪的时间内都停滞不前，这主要是由于对于传染病的病原问题没有解决。直至 19 世纪末期，随着微生物学的发展细菌分离培养的问题得到了解决，因而获得了纯种细菌，为各种人工疫苗的制备提供了先决条件。法国免疫学家 Pasteur 经过不断的动物实验研究，通过生物学方法和理化方法获得减毒菌株。随后德国科学家 Behring 以及日本学者 Kitasato 应用白喉减毒外毒素进行免疫动物的实验研究，由此获得的抗毒素用于白喉病的治疗中并取得了成功。由此开启了人工被动免疫疗法。

（三）补体的发现

在 19 世纪末期，人们又很快发现了免疫溶菌的现象。Peiffer 用新鲜的免疫血清，在豚鼠体内观察到对霍乱弧菌的溶菌现象。Bordet 随后发现若将新鲜免疫血清在 60 ℃的条件下加热 30 min 后可致使其丧失溶菌能力，因此他认为在新鲜的免疫血清内，有与溶菌作用有关的两种不同物质。对热稳定的物质称为溶菌素（即抗体），具有特异性；另一种可存在于正常血清中对热不稳定的物质（即补体），是非特异性的成分。补体具有溶菌和溶细胞的作用，但是这种作用需在抗体存在的条件下才能够实现。

（四）血清学方法的建立

人们在免疫血清中发现了溶菌素、凝集素等特异性组分，这些物质能够与相应的细胞或细菌发生反应，将多种不同的特异性反应物质统称为抗体；将使抗体产生的物质统称为抗原。由此建立了抗原和抗体的概念。与此同时还建立了一些用于诊断传染病的血清学方法，包括有体外检测抗原、抗体反应的血清学技术（如沉淀反应、凝集反应、补体结合反应等），都有助于传染病的诊断和流行病的研究，为病原菌的鉴定和血清抗体的检验提供了有效的方法。

三、近代免疫学时期开端

从20世纪中叶开始进入了近代免疫学时期，该时期也有一些主要的发现。

（一）免疫耐受现象的发现

1945年Owen首先发现了异卵双生的两头小牛的体内都有两种红细胞血型嵌合体的存在，生长之后都可以接受彼此之间的皮肤移植。因此就把这种不同的血型细胞，在彼此体内互不引起免疫反应的现象称为免疫耐受。澳大利亚科学家Burnet等人研究认为，宿主淋巴细胞有识别自己与非己的能力，因此在机体免疫功能成熟之前引入异物，可视为自己成分加以识别，在成体后对该异物不引起免疫反应。因此机体的免疫系统如若在发育尚未成熟的胚胎时期，接受抗原物质的刺激可导致机体在成年后的免疫耐受。随后在1953年英国科学家Medawar等人，在新生期的小鼠体内注入了同种异型脾细胞，成功地进行了人工诱导使小鼠产生了获得性的移植耐受性，对Burnet的研究以有力支持。

（二）细胞免疫现象的发现

Koch在发现结核杆菌之后，用结核杆菌给患者进行皮下注射，使患者再感染以期达到免疫治疗的目的，但结果却引起局部组织坏死，将这一具有特异性但与抗体产生无关的现象称之为Koch现象。1942年Chase等人对Koch现象进行深入的研究，用致敏豚鼠血清转移给正常动物，结果不能引起结核菌素反应，而用细胞转移则能引起反应。由此证明了结核菌素反应不是由抗体引起而由致敏细胞引起，从而证明了机体免疫性除能产生体液免疫外还能形成细胞免疫。

（三）克隆选择学说

澳大利亚科学家Burnet在总结前人研究结果的基础上，提出了抗体生成的克隆选择学说。该学说的基本内容是：机体的免疫系统内本来就存在一些细胞克隆，这些细胞克隆具有能够识别各种不同抗原的功能，各个克隆细胞的表面都存在针对于不同特定抗原的相应的抗体；各种抗原进入机体后，能够选择与之相对应的受体并与其结合，由此刺激该细胞克隆的增殖分化，发生免疫应答反应，进而形成各种抗体。若免疫系统发育成熟前就受到抗原刺激的细胞克隆是不会发生增殖的，被清除掉或者处于抑制状态而成为禁闭克隆；免疫系统发育成熟后使体内失去对于此种抗原的应答能力，在免疫系统功能紊乱失调时，此克隆细胞可以被激活发生免疫应答发应。

（四）免疫学技术的发展

血清学技术得到改进，建立了间接血凝反应和免疫标记技术等，这些技术都大大促进了免疫学的基础研究和临床应用。

四、现代免疫学时期的深入

自20世纪60年代后进入到了现代免疫学时期。现代免疫学的发展方向不断变化，免疫学发展成为机体对自己和非己物质的识别，以此维持机体自身稳定性的生物学概念。在该时期有如下一些主要的发展。

（一）胸腺（腔上囊）功能的认识

首先证明了腔上囊组织具有免疫学功能，在1957年，Glick发现摘除幼年鸡的腔上囊组织能够影响机体内抗体的产生。随后于20世纪60年代初，Miller和Good均在哺乳类动物体内进行早期胸腺摘除的实验，结果又证明了胸腺的免疫学功能。

（二）淋巴细胞功能的认识

1965年，Gowan首此证明了淋巴细胞具有免学功能。1969年，又有科学家提出了T细胞和B细胞亚群的概念。免疫系统的组织学和细胞学基础逐渐建立起来了。同时对抗体分子结构的研究也取得了一定的进展，20世纪40年代首先确定了抗体具有血清球蛋白的性质，随之是对抗体分子结构和生物学功能的研究。首先通过木瓜蛋白酶水解抗体球蛋白分子，得到了具有抗体活性的片段和易结晶片段，随后通过化学还原法证明抗体球蛋白是由多肽链组成，再用抗原分析法证明了抗体分子具有不均一的特性。60年代初建立了免疫球蛋白的分类，即将免疫球蛋白分为IgG、IgM和IgA三大类；1965年Rowe在骨髓瘤患者的血清内又发现了IgD；1966年，石板在枯草热患者的血清中发现了IgE。

Pernis等人于20世纪70年代，采用免疫荧光法证实了位于淋巴细胞膜上的Ig受体的存在。Feldman等人用半抗原载体效应证实了T细胞和B细胞在抗体产生中具有协同作用。Unanue等人证实了巨噬细胞在免疫应答中作为参与机体免疫应答的第三类细胞而存在，由此证明了机体的免疫应答过程是由多种细胞间的相互作用的结果。免疫学的研究也逐渐进入到了细胞生物学和分子生物学的研究领域。此时期对T细胞的发生、分化与功能研究，对T细胞亚类的鉴别以及对T细胞抗原识别受体的研究都取得了较大的进展。通过研究证实了，在机体周围血循环内，存在有功能相异的T细胞亚类，以及证实了辅助性T细胞和抑制性T细胞的存在，对免疫应答的调节起着非常重要的作用。70年代免疫学领域研究最广泛的是以T细胞为中心

的免疫生物学研究。

（三）细胞因子的研究

是现代免疫学研究中令人关注的成果之一。细胞因子的生理功能多样，可介导细胞的相互作用、促进和调节细胞的增殖、分化和效应功能等。已有数十种细胞因子的 cDNA 克隆成果，并对这些细胞因子进行鉴定及分子生物学方面的研究。细胞因子中包括有淋巴因子、单核因子、白细胞介素、干扰素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子和转化生长因子等，由体内各种免疫细胞和非免疫细胞产生。以前人们只是从细胞培养液中提取有限数量的细胞因子进行功能和结构研究，但在对其基因结构、表达调控和基因定位进行研究之后，利用基因工程生产重组细胞因子。所有的白细胞介素（IL）以及干扰素（INF）、肿瘤坏死因子（TNF）和粒细胞单核细胞克隆刺激因子（GM - CSF）等，都可通过基因工程技术在原核或真核细胞中进行表达，生产出具有活性的重组细胞因子，并对其作用机理进行深入研究后应用于临床。

（四）免疫学新技术的发展

免疫学技术的发展大大促进了免疫学的发展，同时还渗透到了生命科学的所有领域，使得免疫学同生物化学、遗传学等学科一样，成为生命科学中的重要学科之一。其中免疫血清学的三大标记技术包括有免疫荧光技术、免疫酶技术和放射免疫技术。这些技术具有方法简易快速、敏感性高、重复性好、特异性强等优点而受到重视。这些技术的不断发展，使得血清学技术逐渐发展成为了一种能在细胞水平或亚细胞水平进行抗原、抗体定位，能对含量甚微的各种生物活性物质进行超微量测定的新型免疫检测技术。这其中免疫酶技术发展最快，据此衍生出多数新技术（如酶联免疫吸附测定技术，均质酶免疫测定技术等），都可根据检测对象和要求的不同并与其他测试技术相结合，产生出很多具体的新技术和新的操作方法。20 世纪 70 年代以来，人们开始关注直接应用分析仪器来测定抗原抗体反应（如免疫散射浊度测定法），这些新技术方法的出现，进一步发展了免疫检测技术的应用范围，使免疫检测技术成为生命科学进入分子水平不可或缺的技术。

（1）T 细胞克隆技术的建立。应用 T 细胞克隆技术，已经建立了一系列抗原 T 细胞克隆，1976 年 Morgan 等人，通过实验证实了 T 细胞生长因子通过体外培养，可刺激 T 细胞克隆长期的生长，用以研究 T 细胞受体、淋巴因子的分泌以及细胞间协同作用等研究，为细胞免疫学的发展做出了很大的贡献。

（2）细胞融合技术的发展。细胞融合技术是一项突破性的生物技术，应用这种技术可制备具有单一抗原决定簇的单克隆抗体。1975 年 Kohler 和

Milstein 首先做了将小鼠骨髓瘤细胞和经绵羊红细胞致敏的小鼠脾细胞相互融合。研究结果发现一些融合的杂交细胞能继续生长，同时能分泌抗羊红细胞抗体，就将这种杂交细胞系统称为杂交瘤。这些研究为生物科学和医学的深入研究提供了广阔的应用空间。

（3）分子杂交技术的发展。分子杂交技术和分子遗传学的理论极大地促进了分子免疫学的发展，促进了对 T 细胞受体分子、免疫球蛋白分子、细胞因子、补体分子以及 MHC 分子等的基因结构功能及其表达机理的研究。分子杂交技术的原理是双链的核酸分子经高温作用后解链，成为两条互补的单链结构，当恢复到原温度后，又可以两条不同的单链分子有可以根据碱基互补配对的原则，聚合为原来的双链结构。碱基序列同源，碱基完全互补或部分互补，均可重新聚合为双链结构，即发生全部或部分复性，此即核酸分子的杂交。如若两种待杂交的分子之一是已知的，预先用放射性同位素或生物素进行标记，将此称为分子探针。以此探针识别另一种核酸分子中与其同源的部分（即目的基因或靶基因），具有极高的特异性和敏感性，此方法已广泛应用于分子生物学和分子遗传学的研究中。

（4）转基因技术的发展。转基因技术的建立使动物不必通过有性杂交就能获得新的基因类型，转基因技术也成为近年来生物技术领域中一项重要的突破性的成就。例如对以小鼠为模型，构建和培育不同免疫性状的转基因鼠已在许多研究领域中得到应用。

第三节　免疫学的应用

一、免疫学在生物学领域的应用

机体的免疫系统能够对自己和非己物质进行识别，对自己成分进行免疫耐受，对非己成分的进行免疫应答，这些都涉及细胞间的信息传递、细胞内信号传导和能量转换等生命过程。此外，机体内的免疫细胞在逐渐发育为具有免疫功能的成熟的免疫细胞的过程中，伴随有膜表面标志物质的变化。因此在发育的任何阶段发生恶性病变的免疫细胞，其膜表面都应该具有其特定的、固有的膜表面的标志，所以通过这些膜表面标志可以识别并研究不同分化阶段的恶性肿瘤细胞，这对于研究恶性肿瘤的发生具有重要意义。

另外，免疫学技术方面的发展，是生命科学研究的基础，为生命科学的研究提供了有力的技术手段。单克隆抗体的应用使生物科学的发展发生了突飞猛进的变化，1975 年 Kohler 和 Milstein，首次成功的运用细胞融合技术，

通过实验研究获得了能够在体外培养的条件下长期传代的 B 细胞杂交瘤，并制备出具有高度特异性和同质性的单克隆抗体。单克隆抗体技术的实现，圆了免疫学家们几十年的梦想，受到生物学家、医学家和产业界的重视。随之，各种单克隆抗体不断出现，并广泛应用于生物科学的各个领域。

免疫学在生物学的发展中起到重要作用。免疫球蛋白和免疫分子基因的研究、免疫球蛋白基因表达的等位排斥现象、MHC 基因复合体的结构和功能研究、对 DNA 结合蛋白调节细胞因子表达的研究等，都极大地促进了分子生物学的研究，促进了对真核细胞基因结构和表达调控的研究。

二、免疫学在医学领域的应用

免疫学的发展向医学领域的各学科都有渗透，由此产生了免疫学分支学科及交叉学科（如肿瘤免疫学、移植免疫学、免疫遗传学、免疫药理学、神经免疫学、临床免疫学、生殖免疫学等）。这些分支学科的发展极大地促进了医学的发展，例如血型和组织相容抗原的鉴定、输血和进行组织移植、早期妊娠诊断、法医学上的亲子鉴定等均可应用血清学技术进行判断。在肿瘤诊断中，血清学的实验技术方法可以用作早期诊断和普查，还可应用各种细胞免疫测定技术作为诊断、疗效监测的辅助方法。在自身免疫病中，可通过自身抗体进行自身免疫病的检测。对变态反应性疾病也主要应用迟发性皮肤变态反应试验技术进行诊断，因此免疫血清学技术在医学疾病的诊断中发挥极大的作用。另外，应用半抗原标记核酸探针技术，使得免疫酶技术进一步深入的应用到基因诊断的领域，可以在切片上进行 PCR 和原位杂交，以检出整合在细胞染色体上极微量的前病毒基因组。

通过免疫学的发展进程，我们可以清楚地看到，免疫学的每一项重要进展都推动着生物学、医学等其他学科的发展。免疫学首先在抗感染方面的取得了巨大成功，由此促进了生物制品产业的发展。人工主动免疫和被动免疫的广泛应用，极大地控制了多种传染病的传播，应用各种疫苗进行疾病的免疫预防，已经在世界范围内消灭了肺结核、麻疹、乙型肝炎、天花、小儿麻痹等疾病，如艾滋病、疟疾等许多全球重大性流行疾病，还在继续努力研制新疫苗进行积极有效的预防治疗。免疫学所取得的巨大进展，在更深更广的范围内推动了生物高新技术产业的发展。用基因工程和细胞工程技术生产的单克隆抗体、细胞因子等均为临床医学提供了很多具有免疫调节作用的新型药物，在多种疾病的治疗上具有传统药物所不可替代的作用。因此说，免疫学作为一门新兴的学科已经越来越受到重视。

第二章　抗　原

在免疫学中，免疫系统接触的物质可以分为自身和非自身，这种非自身的物质通常是指抗原，那么抗原究竟有什么样的特征？什么样的物质可以成为抗原，这是我们这一章要讲述的内容。

第一节　抗原的概念和特性

一、抗原的概念

抗原是一类能诱导免疫系统发生免疫应答，并能与免疫应答的产物（抗体或效应细胞）发生特异性结合的物质。这种结合可发生在体内，也可发生在体外。在免疫学发展的早期，人们应用细菌或其外毒素给动物注射，经一定时期后，用体外实验证明，在其血清中存在一种能使细菌发生特异性凝集反应的物质，称之为凝集素，或能特异性中和外毒素的物质，称之为抗毒素。其后将血清中这种具有特异性反应的物质统称为抗体（Antibody，Ab），而将能刺激机体的物质统称为抗原（Antigen，Ag）。

随着现代免疫学的发展，已经证明，当抗原性物质进入机体后，能触发免疫细胞一系列的复杂的生物学过程，既能刺激免疫细胞产生抗体或效应细胞（即免疫应答），也能诱导免疫细胞对该抗原不表现特异性应答（即免疫耐受），称之为免疫应答。既能诱导正免疫应答，也能诱导负免疫应答。因此，目前认为凡能诱导免疫系统发生免疫应答，并能与其产生的抗体或效应细胞在体内或体外发生特异性反应的物质，可称之为抗原。

二、抗原的特性

根据现代抗原的概念，抗原必须具备二种基本特性，即免疫原性和抗原性（也称为反应原性）。有的抗原物质还具有变应原性和耐受原性。

（一）免疫原性

抗原的免疫原性（Immunogenicity）是指抗原分子能诱导免疫应答的特性，是指能够刺激机体形成特异抗体或致敏淋巴细胞的能力。它涉及抗原分子与免疫细胞间的相互作用，即它必须经过抗原呈递细胞的加工、处理和呈

递作用，以及能被 T 和 B 细胞的抗原识别受体所识别。因此抗原的免疫原性与抗原分子的化学性质相关，更与机体的免疫应答特性相关。

（二）抗原性

抗原的抗原性（Antigenicity）是指抗原分子能与免疫应答产物（抗体或效应细胞）发生特异反应的特性，即能与由它刺激所产生的抗体或致敏淋巴细胞发生特异性反应，故亦称之为抗原的反应原性（Reactivity）。它只涉及抗原分子与抗体分子或 T 细胞的抗原受体分子（TCR）间的相互作用，即分子与分子间的相互作用。只是抗原分子表面的有限部位能与抗体分子结合，称此部位为抗原决定簇（Antigen determinant）或表位（Epitope）。因此抗原的抗原性主要决定于抗原分子的化学性质。如抗原为蛋白质分子，其抗原性可决定于其氨基酸序列或其空间构型。

第二节 抗原的免疫原性

抗原是引起特异性免疫应答的先决条件，抗原的免疫原性，首先决定于其自身的化学特性，然而同一种抗原对不同种动物或对同种动物不同个体诱导的免疫应答强弱程度差异较大，表明抗原的免疫原性不仅取决于其化学性质，也取决于宿主因素。具有免疫原性的物质称为免疫原（Immunogen）。

一、免疫原性的化学基础

许多天然物质可诱导免疫应答，其中大分子蛋白质和多糖具有强免疫原性，小分子多肽及核酸也具有免疫原性。

（一）相对分子质量

凡具有免疫原性的物质，通常为大分子的有机物质，其分子量都较大，一般在 1 万以上，小于 1 万者呈弱免疫原性，低于4 000的无机物一般不具有免疫原性，在有机物中，蛋白质的免疫原性最强。许多小的免疫原性分子可激发细胞免疫，而不产生抗体。亦有大分子量物质，如明胶分子量可达 10 万，但因其为直链氨基酸结构，易在体内降解为低分子物质，所以呈弱免疫原性。可见免疫原性与分子量有关，一般分子量越大，免疫原性越强，其原因有：①分子量越大，表面抗原决定基越多，对淋巴细胞活化作用就越强；②大分子物质溶解于水中呈胶体状，化学结构较稳定，不易被机体破坏或排除，在体内存留时间较长，有利于刺激免疫系统产生免疫应答。但有些大分子胶体物质进入机体后易被水解为小分子，不再具有免疫原性。相反某些低分子多肽，如胰岛素，其分子量为 5.7 kDa，却有免疫原性。

（二）化学组成

大分子蛋白质，分子量大于10 000者，可含有大量不同的抗原决定簇，是最强的免疫原。如异种血清蛋白、酶蛋白及细菌毒等，是强免疫原蛋白质的例子。

多糖是重要的天然抗原，纯化多糖或糖蛋白、脂蛋白以及糖脂蛋白等复合物中的糖分子部分都具有免疫原性。在自然界，许多微生物有富含多糖的荚膜或胞壁，细菌多糖如荚膜及胞壁，细菌内毒素的脂多糖及血型抗原（A、B型），其免疫原性取决于结构的复杂性，即单糖的数目和类型。

核酸分子多无免疫原性，但如与蛋白质结合形成为核蛋白则有免疫原性。如某些自身免疫性疾病中出现天然核蛋白，可诱导免疫应答产生抗DNA或抗RNA抗体。

此外，多肽类激素如胰岛素虽为小分子量（6 000）亦具有免疫原性。来自一种动物的胰岛素，如长期用于另一种动物，亦能诱导免疫应答产生抗体。

（三）化学结构

从结构上看，结构越复杂，其免疫原性越强。多数大分子蛋白质具有很好的免疫原性，凡含有大量芳香族氨基酸，尤其是含有酪氨酸的蛋白质，免疫原性均明显高于非芳香族氨基酸为主的蛋白质。如卵白蛋白既含有芳香族氨基酸又呈环状结构，故它具有很强的免疫原性；相反，如构成明胶的氨基酸均为直链结构，缺少环状结构，因而它的免疫原性极弱。蛋白质和多糖抗原，凡结构复杂者免疫原性强，反之则较弱。其复杂性是由氨基酸和单糖的类型及数量等决定的。如聚合体蛋白质分子较单体可溶性蛋白质分子的免疫原性强。

二、宿主因素与免疫原性

免疫原性物质进入机体后能否诱导产生免疫应答，除上述化学基础外，还受宿主方面的影响，而且是更要的因素。

（一）异物性

异物性是指抗原与自身正常组织成分的差异程度，正常情况下，自身组织和细胞不引起免疫应答，只有异种或同种异体的免疫原性物质才能诱导宿主的正免疫应答，即只有“非自身”抗原才能引起正免疫应答，因此异物性是一种物质成为抗原的重要条件。这是由于免疫系统在个体发育过程中，对“自身”抗原产生耐受，不能识别，而对“非自身”抗原则能够识别所致。因此抗原来源与宿主种系关系越远，其免疫原性也越强，如微生物抗

原、异种血清蛋白等物质对人是强免疫原。反之种系关系越近免疫原性越弱，如鸭血清蛋白对家兔呈强免疫原性，而对鸡则呈弱免疫原性。但在正常个体也可诱发生理性自身免疫应答，只有超出一定范围才能直病理性自身免疫应答。异物性并不仅指异体成分，自身成分在胚胎期未与免疫活性细胞充分接触过的物质或自身成分发生改变与修饰能被自身免疫系统识别的物质也可被视为异物。

异物性物质通常可分为三类：

（1）异种物质如细菌、病毒、真菌等。异种动物血清、植物蛋白质（花粉、孢子等）。

（2）同种异体物质如人类红细胞表面血型抗原（A、B、O、Rh）；组织相容性抗原等。

（3）改变与修饰的自身成分及隐蔽的自身成分的释放主要在外伤、感染、电离辐射及药物等多种因素的作用与影响下，使自身正常组织结构发生改变，以及隐蔽的自身抗原（甲状腺球蛋白、眼晶状体蛋白、精子等）释放人血。

（二）宿主遗传性

同种动物不同个体间感染的抵抗力存在明显差异，但不能解释其产生的原因，只以个体差异说明。其后，用已知人工合成抗原给不同近交系动物免疫，每一近交系动物其遗传背景相同，结果发现有的品系能产生抗体，称为高应答品系（Hkgh responder）。有的品系不能产生抗体，称为无或低应答品系（Nonrespondre）。例如，应用人工合成抗原二硝基苯—多聚—左旋—赖氨酸（DNP - poly - L - L），在荷兰猪品系 2（GP strain2）可以引起应答，而对品系 13（GP strain13）则不能引起应答。这些都说明宿主的遗传性决定着宿主对抗原的免疫应答能力，机体的免疫应答是受基因控制的。控制人类免疫应答基因位点定位于 HLA 复合体的 D 区；在 20 世纪 70 年代 McDevitt 等应用人工合成抗原在近交系小鼠体内发现了控制免疫应答的基因座（Immuneresponslocus）定位于 H－2 复合体的 I 区，称此基因为免疫应答基因－1（Immuneresponse，Ir－1）。宿主的年龄、性别和健康状态也影响着机体对抗原应答的强弱。一般幼年和老年动物比青壮年动物免疫应答弱，雌性动物抗体生成比雄性动物多，这是因为雌激素能促进抗体的生成，因此在进行实验的过程中对动物的选择和结果的分析要考虑这些因素。

（三）免疫佐剂

免疫佐剂（Immunoad juvant）是与抗原同时或预先注射到机体，能增强机体对该抗原的免疫应答或改变免疫应答类型的物质，又称为佐剂

(Adjuvant)。由于佐剂的综合效应是增强机体的免疫机能，故应用范围很广，例如免疫动物时加用佐剂可获得高效价的抗体；预防接种时加用佐剂可增强疫苗的效果；临床上可作为免疫增强剂用于肿瘤或慢性感染患者的辅助治疗等。佐剂对弱或无免疫原性的物质的免疫更加重要，生物学作用如下：①使无或弱免疫原性的物质成为有效的免疫原；②产生或增强迟发型超敏反应；③改变抗体的产生类型；④提高抗体滴度。

免疫佐剂的种类有：①微生物及其产物，常用的微生物有分枝杆菌、短小棒状杆菌、百日咳杆菌以及处左兰氏阴性杆菌的提取物脂多糖，自分枝杆菌的提取物质胞壁酰二肽等。②多聚核苷酸，如多聚肌苷酸：胞苷酸(poly1：C)，多聚腺苷酸（poly1：A：μ）等。③弗氏佐剂（Freundad juvant)，这是目前最常用于动物实验的佐剂，它是将抗原水溶液与油剂（石蜡油或植物油）等量混合，再加乳化剂（羊毛脂或叶吐温 80）制成油包水抗原乳剂，称之为不完全弗氏佐剂。如在不完全佐剂中加入分枝杆菌（如卡介苗）则称为完全弗氏佐剂。④无机物，如明矾及氢化铝等。

佐剂的作用机理为：①与抗原混合后可改变抗原的物理性状（如油剂等)，有利于抗原在体内缓慢地释放，延长存留的时间；②被佐剂吸附的抗原（尤其是可溶性抗原)，易被巨噬细胞吞噬，佐剂还可刺激巨噬细胞的吞噬作用及对抗原的处理；③可促进淋巴细胞的增殖、分化，从而增强机体的免疫应答。

第三节 抗原的抗原性

自发现抗体后，用血清学方法在体外实验，证明了天然抗原与其相应抗体发生特异性结合，这是一个重要的免疫学现象，称这种特性为抗原的抗原性，也称为抗原的反应性。即抗原和抗体相互结合的特性。在早期由于尚未建立对蛋白质抗原进行分析的方法，为研究抗原性的化学本质造成了困难。奥地利免疫化学家 Landsteiner 在 20 世纪 20 年代创建了人工结合抗原，并应用血清学方法对抗原性的化学本质进行了系统的研究，为抗原、抗体的相互作用提供了大量知识，为天然抗原化学性质的研究奠定了基础。用化学合成法或基因重组法制备含有已知化学结构决定簇的抗原，称之为人工抗原。它可包括人工结合抗原、人工合成抗原和基因重组抗原。无论对免疫学理论研究和分子疫苗的制备都具有重要意义。

一、抗原决定簇

抗原决定簇（Antigenic determinant），也称为抗原表位（Epitope），是抗原分子中决定其抗原性（反应性）的特殊化学结构（包括化学集团和分子构象）。抗原通过它与抗体分子或者致敏的淋巴细胞相结合。

（一）抗原决定簇的性质、大小和数量

蛋白质类抗原，每个决定簇由4~7个氨基酸残基组成；多糖类抗原，由5~6个糖残基组成；核酸类抗原由5~8个核苷酸残基组成。通常我们把抗原分子上抗原决定簇的数目称为抗原价（Antigenic valence）。一般来讲，我们接触的抗原上都含有多个决定簇，所以称为多价抗原（Multivalent antigen），而有一些如简单半抗原，属于单价抗原（Monovalent antigen）。

（二）抗原决定簇的分类

抗原物质中的决定簇按照存在的位置和所起的作用分为两类，分别称为构象决定簇（Conformational determinants）和顺序决定簇（Sequential determinant）。构象决定簇指序列上不相连而依赖于蛋白质或多糖的天然空间构象形成的决定簇，一般暴露于抗原分子的表面。顺序决定簇指一段序列相连的氨基酸片段所形成的决定簇，又称线性决定簇（Linear determinant），多存在于抗原分子的内部。

按照抗原分子对T细胞和B细胞的刺激作用，可以划分为T细胞决定簇和B细胞决定簇。T细胞决定簇需要加工之后才能显示出来，氨基酸彼此相连，呈线状排列，它可以位于分子内部也可以位于分子表面，需要经过抗原呈递细胞的加工才可以和自身的MHC分子结合成复合物，再表达于细胞膜上。而B细胞决定簇是天然的，具有一定的空间构型，位于抗原分子的表面或者转折处。

二、半抗原（Hapten）

半抗原是指不含蛋白质成分的有机小分子，能够和抗体起反应，但是不能诱导机体产生免疫应答，即无免疫原性而只有抗原性（反应性）。常见的一些药物，如青霉素、核苷酸或者某些有机化合物属于半抗原。

（一）半抗原的研究历程

在半抗原的研究中，贡献较大的是Landsteiner首创用已知化学结构的低分子化合物或化学基团与免疫原性蛋白质进行偶联，制备了偶连蛋白。将无免疫原性的简单化学基团与蛋白质载体偶联，或将无免疫原性的有机分子如二硝基苯（DNP）或三硝基苯（TNP）与蛋白质载体结合，形成载体—半

抗原结合物，均属人工结合抗原。应用此种抗原证明了抗原与抗体特异结合的化学基础，以及在抗体生成过程中T细胞与B细胞的协同作用。由于低分子化合物本身无免疫原性，单独免疫动物不能对其产生抗体，如与蛋白质偶联再免疫动物则能对其产生抗体，并能单独与其抗体结合。所以称此种无免疫原性低分子化合物为半抗原，称免疫原性蛋白质为载体（Cauuier，C）自此建立了半抗原与载体的概念（H－C）。因此可以认为半抗原是外加在免疫原分子上的已知化学结构的化学基团，在一定意义上它与抗原分子上未知化学结构的天然抗原决定簇是同义语。

（二）载　体

常用的半抗原载体蛋白质类有牛血清蛋白（BSA）、牛血清丙种球蛋白（BGG）、卵清蛋白（OA）、鸡丙种球蛋白（CGG）、钥孔嘁血蓝蛋白（KLH）及人工合成多聚赖氨酸（PLL）等。常用的半抗原有二硝基苯酚（DNP）和三硝基苯酚等低分子化分物。Landsteiner采用带有不同酸基的有机物为半抗原，分别与同一种载体偶联制备了几种酸基不同的半抗原载体结合物，然后免疫动物。用所得抗体与已知半抗原进行体外补体结合实验，结果证明，带不同酸基的半抗原只能与其相应抗体结合。同理，他用氨基苯甲酸的三种异构物（邻位、间位、对位）分别与同一种载体蛋白偶联的半抗原载体结合物，只能与其相应抗体结合。上述实验证明，抗原与抗体的特异结合是与抗原分子表面的特殊结构的化学基团相关。将抗原分子表面能与其抗体结合的部位称为抗原决定簇，即抗原的抗原性是由其抗原决定簇的性质、数目和空间构型所决定。抗原决定簇是被免疫细胞识别的标志和免疫反应具有特异性的物质基础。

三、共同抗原与交叉性

天然抗原表面常带有多种抗原决定簇，每种决定簇都能刺激机体产生一种特异性抗体，因此，复杂抗原能使机体产生多种抗体。例如一种细菌感染机体后可测到体内有鞭毛抗体、菌体抗体等多种成分的抗体。有时两种不同的微生物间可存在有一种相同或相似的抗原决定簇，称为共同抗原（Common antigen）。抗原除与其相应抗体发生特异反应外，也可与其他相关抗体发生反应，称这种现象为交叉反应。假如甲、乙两菌间有共同抗原存在，则由甲菌的某一抗原决定簇刺激机体产生的抗体，也可以和乙菌中相同的抗原决定簇结合，产生交叉反应。交叉反应也可在两种抗原决定簇构型相似的情况下发生，但由于两者之间并不完全吻合，故结合力较弱，为低亲和力。在发生学上较近的种属间，其抗原产生的抗体，彼此间易出现交叉反

应。如牛血清清蛋白与其他种属清蛋白之间的交叉反应。由于有共同抗原和交叉反应的存在，作血清学诊断时应予注意，以免造成误诊。

第四节 抗原的分类

根据研究工作的需要，我们对抗原物质进行了人为的划分。

一、根据抗原的来源和制备方式分类

（一）天然抗原

指自然界本身就存在的蛋白质、多糖或者核酸类抗原，它们是制备疫苗和毒素的基础。

（二）人工抗原

用化学合成法或基因重组法制备含有已知化学结构决定簇的抗原，称之为人工抗原。它可包括人工结合抗原、人工合成抗原和基因重组抗原。这些抗原对免疫学理论研究和新型疫苗的制备都具有重要意义。

1. 人工结合抗原

将无免疫原性的简单化学基团与蛋白质载体偶联，或将无免疫原性的有机分子如二硝基苯（DNP）或三硝基苯（TNP）与蛋白质载体结合，形成载体——半抗原结合物，均属人工结合抗原。应用此种载体——半抗原复合物抗原证明了抗原与抗体特异结合的化学基础，以及在抗体生成过程中 T 与 B 细胞的协同作用。

2. 人工合成抗原

用化学方法将活化氨基酸聚合，使之成为合成多肽，只由一种氨基酸形成的聚合体称为同聚多肽，如由左旋赖氨酸形成的共同聚多肽（PLL）。由二种或二种以上氨基酸形成的聚合多肽称为共聚多肽，如由酪氨酸、谷氨酸与多聚丙氨酸和赖氨酸组成的聚合成多肽（T、G） - AL。应用这种人工合成多肽可研究氨基酸种类、序列与蛋白质抗原性及免疫原性的关系，也可研究机体遗传性与免疫性的关系。

对天然蛋白质抗原性的研究证明，任何一个氨基酸片段，只要具有合适的构型，都有抗原性，甚至一小段合成的小肽与合适的载体相联接，也能诱导产生抗体，并能与其天然分子构型相结合，这就提示，可根据天然蛋白质抗原的免疫原性片段进行氨基酸序列分析，或由其编码 DNA 推导的氨基酸序列，进行构建人工合成多肽疫苗。合成疫苗可以大量生产，能够解决有些病毒不能人工培养的问题和不断出现新的血清型或由于减毒不彻底导致的安

全问题。

（三）基因工程抗原

近年来由于分子生物学技术的进步，已有可能将编码免疫原性氨基酸序列的基因克隆化并与适当载体（如细菌粒或病毒）DNA 分子相结合，然后引入受体细胞中（如原核细胞的大肠杆菌或真核细胞酵母菌及哺乳类动物细胞）使之表达，即能获得免疫原性之融合蛋白，经纯化后可作为疫苗，此即基因工程疫苗。应用分子生物学技术制备基因重组疫苗的另一进展，是将目的抗原决定簇的 DNA 序列插入另一种比较安全的活病素基因组中（如牛痘苗），制备所谓重组感染载体多价疫苗。

随着 20 世纪 70 年代分子病毒学的发展，特别是对病毒基因的结构、功能与复制方面知识的积累，为迅速研制病毒亚单位疫苗、合成多肽苗以及基因工程疫苗奠定了基础。一些重要病毒如乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒、疱疹病毒以及流感病毒等的蛋白质多肽，都已利用基因工程进行了成功的表达，有的已进入临床试验阶段。我国也报道了正在进行研制基因工程乙型肝炎病毒疫苗，将编码 HbsAg 的基因插入酵母菌基因组中制成 DNA 重组乙型肝炎疫苗。实验证明，将编码 HbsAg 的基因插入酵母菌基因组中制成 DNA 重组由抗原激发的免疫应答是多细胞相互作用的结果，即由抗原呈递细胞、T 细胞和 B 细胞共同参与完成的。

二、根据抗原与机体的亲缘关系划分

根据抗原性物质与机体的亲缘关系可分为“自身”（self）与“非自身”（non－self）抗原。即与机体种系发生关系愈远，其遗传性差异越大，其免疫原性也愈强。

（一）自身抗原

某些自身组织成分在正常情况下与血液和免疫系统是隔绝的，于免疫耐受状态，从未接触过免疫细胞，不能激发免疫应答，但如打破自身耐受，则可引起自身免疫应答；另一些自身组织成分虽具有免疫原性，但在正常情况下，由于组织屏障，不能进入血流，因此不能与免疫细胞接触，也不能激发免疫应答，称此种抗原为隐蔽性身抗原，如脑组织、葡萄膜色素蛋白、眼晶状体蛋白、甲状腺球蛋白及精子等。当因外伤或手术等原因，使此种抗原进入血流时，接触免疫细胞，则可引起自身免疫应答，导致自身免疫性疾病。受病原微生物的感染或应用某些化学药物，可与自身组织蛋白结合，改变其分子结构，形成修饰的自身抗原，也可以刺激机体产生免疫应答，严重者可引起自身免疫性疾病，如用药后引起的某些血细胞减少症。

（二）异种抗原

来自异种动物的抗原物质称为异种抗原。如来自外部侵入人体的各种病原微生物及其产物的外毒素，注射的异种动物免疫血清，以及吸入和食进的异种蛋白，例如花粉和食物均属异种抗原。由于与人种属关系远为强免疫原。此外癌细胞可在人体内产生特异性癌抗原，但对其免疫原性迄今尚未能证实。

在同种动物不同个体间也存在各种组织成分抗原性的差异，称此种抗原为同种异型抗原。这种抗原受遗传支配，它可在遗传性不同的另一些个体内引起免疫应答，称之为异型免疫应答。如人血型抗原不同输血时可引起输血反应，血型抗原是红细胞表面的同种异型抗原，人 ABO 血型抗原，根据人类红细胞表面所含有的 A、B 抗原的不同，将人类血型分为 A、B、AB 和 O 四种血型。A 型和 B 型红细胞上分别有 A 抗原和 B 抗原；AB 型红细胞上有 A、B 两种抗原；O 型红细胞上不含 A、B 抗原，但含有 A、B 抗原的前体物质—H 抗原。同一人血清中不含与本人血清抗原相应的抗体。A 血型人血清中含有抗 B，B 血型人血清中含有抗 A，AB 血型人血清中既无抗 A 又无抗 B，O 血型人血清中既有抗 A 又有抗 B（如表 2－1）。天然血型抗体为 IgM 类。组织相容性抗原或移植抗原型不同可引起移植排斥反应。此外，免疫球蛋白分子上存在的 Gm、Am、Km 标记均属异型抗原，可用以鉴别 IgG、IgA 及 K 轻链的异型。

表 2－1　血型抗原与血型抗体

表　型	血型抗原	血型抗体
A	A	抗 B
AB	AB	无
B	B	抗 A
O	无	抗 A、抗 B

（三）异嗜性抗原

在不同种属动物组织间也可发现有共同抗原，称这种抗原为异嗜性抗原，也就是前面我们所讲述的共同抗原。异嗜性抗原是一类与种属特异性无关，存在于不同种系生物间的共同抗原。其中比较典型的异嗜性抗原是 Forssman 抗原，其本质成分为脂多糖复合物，它存在于绵羊、马和豚鼠等许多动物的红细胞上，在某些细菌如肺炎球菌、痢疾杆菌、伤寒杆菌和副伤寒杆菌的细胞壁上也存在该成分。而在人和大鼠及兔等动物体内却没有该抗原

但是存在抗 Forssman 抗原的抗体，可以导致含有这种抗原的红细胞发生凝集。此外，在某些病原微生物与人体某些组织间存在着此类抗原，如乙型溶血性链球菌的细胞壁多糖抗原；大肠杆菌 O_{86} 含有人的 B 血型物质；蛋白抗原与人体的心肌、心瓣膜及肾小球基底膜之间存在的嗜性抗原，可能与急性肾小球肾炎和风湿病的发病有关；大肠杆菌 O_{14} 型的脂多糖与人的结肠黏膜之间也存在异嗜性抗原，可能与溃疡性结肠炎的发病有关。由于这种抗原无种属特异性，它可共同存于人、不同种动物与微生物之间，因此它与疾病的发病学和诊断有一定意义。有些病原微生物与人体某些组织具有共同抗原成分，是引起免疫性疾病的原因之一。当这些微生物感染人体后，可刺激机体产生相应抗体。在一定条件下，这些抗体可以与含有异嗜性抗原的上述组织结合，通过免疫反应造成机体组织损伤，从而引起风湿病、肾小球肾炎、溃疡性结肠炎等。

某些疾病的诊断也可借助于对异嗜性抗原的检测。例如引起原发性非典型肺炎的病原支原体与 MG 株链球菌有共同抗原，可藉其血清中抗体对此种链球菌的凝集反应进行诊断；疹伤寒的外裴反应就是利用变形杆菌 OX19 和 OX2 株为抗原，代替立克次体抗原来诊断立克次体病的。此外传染性单核细胞增多症患者血清中，可出现凝集羊红细胞的异嗜性抗体，可用羊红细胞凝集反应进行诊断。

三、根据是否依赖辅助性 T 细胞发生免疫应答划分

（一）胸腺依赖性抗原（Thymus dependent antigen，TD－Ag）

在刺激 B 细胞产生抗体时需要 T 细胞的辅助，所以称为 TD－Ag。大多数抗原激发的体液免疫应答，必须有 Th 细胞参与才能完成，如细胞、病毒及各种蛋白质均为 TD 抗原。TD－Ag 活化成熟的 B 细胞，诱导产生 lgG 类抗体，能引起回忆应答。同时也可以诱导细胞免疫应答。

（二）胸腺非依赖性抗原（Thymusin dependent antigen，TI－Ag）

少数抗原物质，在刺激 B 细胞产生抗体时不需要 T 细胞辅助，可单独刺激 B 细胞产生抗体，所以称这种抗原为 TI－Ag。此类抗原只含有 B 细胞抗原决定基，只活化未成熟 B 细胞，诱导产生抗体仅为 IgM 类。TI－Ag 一般只引起体液免疫应答，不引起细胞免疫应答和回忆应答。如细菌的脂多糖、荚膜多糖及聚合鞭毛素等少数抗原属于此类抗原。

这两种抗原的区别主要在于其抗原决定簇的结构不同所致。TD 抗原在其分子结构上，既具有载体功能的决定簇，也具有抗原性决定簇。且在其分子表面出现多种不同抗原决定簇，但缺乏重复出现的同一决定簇，TD 抗原

主要是大分子蛋白质。而TI抗原多数为大分子多聚体，带有重复出现的同一抗原决定簇，且降解缓慢，故不须Th参加即能直接刺激B细胞，TI抗原主要是多糖类物质。

四、根据抗原的性能划分

（一）完全抗原（Complete antigen）

是指免疫原性和反应原性（抗原性）都具有的抗原物质，常见的天然蛋白质抗原都是完全抗原。

（二）半抗原

半抗原是指无免疫原性而具有抗原性的物质（如前第三节中抗原的抗原性一节所述）。

五、肿瘤抗原

在肿瘤发生时，伴随着肿瘤出现的抗原物质。通常可以划分为肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原。

（一）肿瘤特异性抗原（Tumor specific antigen，TSA）

仅存在于肿瘤细胞表面，在正常细胞上不存在的一类抗原物质。

（二）肿瘤相关抗原（Tumor associated antigen，TAA）

在正常组织上也有表达，但是在肿瘤组织中出现表达量和质的差别。常见的有甲胎蛋白和癌胚抗原（在肿瘤免疫一章中详细讲述）。

第五节　超抗原和有丝分裂原

通常我们所接触的抗原物质只能激活极少数抗原特异性T细胞，这属于常规抗原。但是有一些抗原物质只需极低的浓度就可以激活大量的T细胞克隆，还有一类抗原可以激活某一群淋巴细胞，这些都属于特殊的抗原物质。下面我们分别进行简单的介绍。

一、超抗原

（一）超抗原的概念

超抗原（Supper antigen，SAg）是一类由细菌外毒素或逆转录病毒蛋白构成的抗原性物质，该类抗原能与多数T细胞结合并为T细胞活化提供信号，极微量抗原可活化多克隆T细胞，产生很强的刺激效果，而普通的抗原只能与少数对应T细胞结合并使之活化。因此称这种能与多数T细胞结

合的抗原为超抗原。

（二）超抗原与T细胞结合的特征

超抗原主要与$CD4^{+}$T细胞结合，而和普通抗原肽与T细胞的结合有很大差异。超抗原既能与APC细胞上MHC Ⅱ类分子结合，也能与TCRVβ链结合是其作用特点。超抗原无需经APC加工可直接与MHC Ⅱ类分子非多态区外侧结合，而不是与肽结合沟结合，故无MHc限制性。

在T细胞方面超抗原只与TCRVβ片段结合，可使具有同一Vβ簇的多克隆T细胞活化，而与TCR的Dβ、Jα和Jβ区无关，也与TCRα链无关。任一已知超抗原能与其特殊的Vβ片段结合，所以一种超抗原可活化多数T细胞，占T细胞库的1/20～1/5，这远远超过普通抗原活化T细胞的数量。

（三）超抗原的种类

1. 内源性超抗原（病毒性）

20世纪70年代初Festenstein发现在MHC相同，而MHC以外基因区不同的纯系鼠间进行淋巴细胞混合培养，可引起很强的T细胞增殖反应，将刺激这种增殖反应的抗原称为次要淋巴细胞刺激抗原（Minor lymph'ocyte stimulating antigen，Mlsag）。近年来证明这种内源性MLs抗原是小鼠乳腺肿瘤病毒（Mouse mamary umor virus，MMTV）产生的蛋白。MMTV是一种逆转录病毒，以前病毒（Provirus）形式整合于小鼠细胞DNA中。这种小鼠可终生制造这种病毒蛋白，因之可视为一种自身超抗原。这种小鼠内源性MLs抗原的化学性质现已证明是一种糖蛋白。

由于MLs抗原的来源已经清楚，故目前称这种小鼠的内源性超抗原为病毒性超抗原。人类是否也有这种病毒性超抗原，目前尚不能肯定，但有人提出人类免疫缺损病毒（HIV）也是逆转录病毒，有可能是人类的病毒性超抗原。

2. 外源性超抗原（细菌性）

外源性超抗原是一类细菌性外毒素组成，主要由革兰氏阳性细菌产生。如金黄色葡萄球菌产生的肠毒素（Staphylococcus enterotoxin，SE）以及链球菌产生的致热外毒素等。

（四）超抗原的生物学意义

1. 超抗原与T细胞的耐受诱导

在胸腺内分化发育中的T细胞如与超抗原结合，可诱发程序性细胞死亡，导致克隆排除。用抗Vβ单克隆抗体在周围血中检测不出带有特殊Vβ受体的T细胞，为T细胞耐受诱导机制的研究提供了有力的实验模式。

2. 超抗原与某些疾病密切相关

金黄色葡萄球菌感染所产生的外毒素主要是可溶性蛋白分子，近年来的研究证明葡萄球菌外毒素对靶细胞并无直接毒性作用，而是通过活化多数T细胞所释放的大量细胞因子产生的生物学效应引起的毒性休克综合征等临床征状。

3. 某些自身免疫性疾病发现与某些Vβ阳性T细胞增殖相关

周围组织存在自身反应性T细胞克隆，若被外源性超抗原刺激、活化后，可导致自身免疫性疾病。也有学者认为人类的免疫缺陷病毒引发的人艾滋病，其发病学与其超抗原相关。

二、有丝分裂原

有丝分裂原与前两种抗原的区别在于它能够使某一群淋巴细胞（T细胞或者B细胞）的所有克隆都被激活，所以属于一种非特异性的多克隆激活剂。有丝分裂原大多为植物种子中提取的蛋白，或者是细菌结构成分或产物等。在T细胞或者B细胞表面均表达多种有丝分裂原的受体，可以结合有丝分裂原，从而促进淋巴细胞活化和增殖，转化为淋巴母细胞。淋巴母细胞表现为细胞体积增大、DNA合成增加以及出现有丝分裂等现象，所以我们可以在体外对细胞的形态进行观察，这种实验称为淋巴细胞转化实验。常见的有丝分裂原包括植物血凝素、刀豆蛋白A、细菌脂多糖、葡萄球菌蛋白A和美洲商陆（Pokeweed mitogen，PWM）。

第三章 免疫球蛋白

第一节 抗体的发现及其特性

随着免疫学的不断发展，现已研究证明，在高等动物和人机体内存在着一组复杂的免疫系统。由免疫器官、免疫细胞和免疫分子共同组成了免疫系统。根据免疫器官的作用，可将其分为中枢免疫器官（哺乳类动物和人类的胸腺、禽类的法氏囊等）和周围免疫器官（脾和全身淋巴结）。其中法氏囊是禽类 B 细胞发育分化的器官、胸腺是 T 细胞发育分化的器官。脾和全身淋巴结是成熟 T 和 B 细胞定居的部位，也是发生免疫应答的场所。黏膜免疫系统和皮肤免疫系统也是重要的局部免疫组织。免疫分子包括有免疫细胞膜分子（如主要组织相容性分子、抗原识别受体分子、分化抗原分子以及一些其他受体分子等）、也包括由免疫细胞和非免疫细胞合面和分泌的分子（如补体分子、免疫球蛋白分子以及细胞因子等)。免疫细胞包括淋巴细胞系、造血干细胞、单核吞噬细胞系、粒细胞系、红细胞以及肥大细胞和血小板等。

一、抗体的发现

曾荣获诺贝尔奖的德国学者 Behring 和日本学者北里，在 1890 年经研究发现，用白喉毒素免疫过的动物，其血清中存在一种能中和外毒素的物质，当时将这种物质称为抗毒素。将这种免疫血清注射到正常动物体内，也具有中和外毒素的作用。之后，用抗白喉外毒素的血清，成功地治愈了一个患白喉病的女孩，这也是第一个被动免疫治疗疾病的例子。以后人们相继在免疫血清中发现了凝集素、溶菌素、沉淀素等特异性成分，它们均能与相应的细胞或细菌发生反应，将这些物质统称为抗体。

抗体分子（Antibody，Ab）由浆细胞合成并分泌，每一种浆细胞克隆能够产生一种特异的抗体分子，所以存在于血清中的抗体，是多种抗体分子的混合物，抗体本身的组成也非常不均一，而且含量很少，不易从正常人血清中分离纯化，致使对于抗体分子结构的分析十分困难。

由浆细胞无限增殖，可形成多发性骨髓瘤的细胞克隆，所有瘤细胞的遗

传特性相同，因此它们合成和分泌的蛋白质分子在化学结构上是均一的。存在于血液中的这种蛋白分子称为骨髓瘤蛋白（或称 M 蛋白），存在于尿液中的则称为本周蛋白，由于这种蛋白分子含量很高、易纯化，故为 Ig 分子的分子结构、理化性质、抗原性、生物学活性以及其基因结构等方面的研究者有了重大突破。

二、抗体的性质

早在 20 世纪 40 年代初期，Tiselius 和 Kabat 通过实验证实了抗体的活性与血清丙种球蛋白组分相关，分析抗体是球蛋白。他们用肺炎球菌多糖免疫家兔，可获得高效价免疫血清，然后加入相应抗原吸收以除去抗体，将去除抗体的血清进行电泳图谱分析，发现丙种球蛋白（γ - G）组分明显减少，从而证明了抗体活性是存在于丙种球蛋白内。后经对不同免疫血清的电泳分析，超速离心分析和分子量测定等方法，发现大部分抗体活性存在于 γ 球蛋白内。因此，早期对抗体性质的研究证明抗体不是由均质性球蛋白组成，而是由异性球蛋白组成。

为了准确描述抗体蛋白的性质，在 20 世纪 60 年代初提出将具有抗体活性的球蛋白称为免疫球蛋分子（Immunoglobulin，lg）。将 γ 球蛋白称为 IgG、β2M 称为 IgM、而 β2A 称为 IgA。以后又相继发现二类 Ig 分子，分别称为 IgE 和 IgD。故在血清中现已发现有五类免疫球蛋白分子，它们的结构与功能是各不相同的。

免疫球蛋白的两个重要特征是具有特异性和多样性。首先，免疫球蛋白作为抗原结合蛋白可特异识别并结合环境中大量的抗原分子（如白喉抗毒素只能中和白喉杆菌外毒素，而不能中和破伤风外毒素）。不同抗体识别的抗原决定簇是不一样的，因此说它们的结合呈现特异性；另一方面由不同抗原激发产生的抗体具异质性，它们在基因序列、氨基酸构成上是不同的，甚至由同一抗原激发的抗体也是不同的，这就是免疫球蛋白的多样性。免疫球蛋白作为一个多功能性的分子，首先可结合抗原，其本身也可作为抗原诱发抗体的产生，还可激发一系列如补体激活、调理吞噬、信号传导等次级反应。抗体可增强吞噬细胞的吞噬作用，体外实验证实，在中性粒细胞的悬液中加入免疫血清，可增强对相应细胞的吞噬作用，称这种现象为抗体的调理作用。

抗体分子与补体分子之间具有相互作用，在一定条件下，抗体分子可以与存在于血清中的补体分子相结合，并使之活化，产生多种生物学效应，称之为抗体的补体结合现象。进一步了解抗体分子的结构与功能的关系，可更

深入的揭示抗体分子与免疫细胞之间的相互作用。

第二节 免疫球蛋白的分子结构与功能

一、免疫球蛋白的分子结构

有关免疫球蛋白分子结构和功能的研究是现代免疫学中的一项重要内容，在免疫分子当中我们对于免疫球蛋白分子的分子结构和功能研究得最清楚。尽管抗体发现的较早，但由于存在于血清中的抗体分子不均一，具有异质性，故对其结构的研究十分困难。在 20 世纪 50 ~ 60 年代，Porter 等人对血清中 IgG 抗体进行研究，弄清了免疫球蛋白分子的基本结构，提出免疫球蛋白分子的结构模型（见图 3 - 1）。

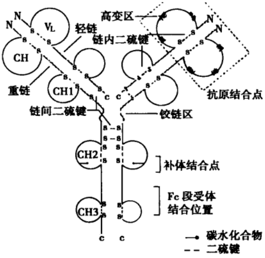


图 3 - 1 免疫球蛋白分子的基本结构

免疫球蛋白分子的基本结构是由四肽链组成的，四条链中的两条长的相同分子量较大的肽链称为重链，两条短的相同分子量的较小肽链称为轻链，四条链通过链间二硫键构成招突□窘峁埂8 盟碾牧捶肿映莆狪 g 分子的单体，是构成免疫球蛋白分子的基本结构，Ig 单体中四条肽链两端游离的氨基或羧基的方向是一致的，分别命名为氨基端（N 端）和羧基端（C 端）。

（一）重 链

重链是由 420 ~ 440 个氨基酸组成，相对分子质量为 50 ~ 77 kD，大小约为轻链的 2 倍。每条 H 链含有 4 ~ 5 个链内二硫键所组成的环肽，两条重链

之间由一对或一对以上的二硫键（—S—S—）互相连接。不同的H链具有不同的抗原性，这是由于组成的氨基酸排列顺序、二硫键的数目和位置及含的种类均不同造成的。根据H链抗原性的差异可将其分为μ链、λ链、α链、δ链和ε链5种不同类型，不同H链与L链（κ或λ链）组成完整Ig的分子分别称之为IgM、IgG、IgA、IgD和IgE。γ、α和δ链上含有4个肽，μ和ε链含有5个环肽。从重链的氨基端（N端）开始，最初的110个氨基酸的排列顺序以及结构是随抗体分子的特异性不同而有所变化，这一区域称为重链的可变区（Variable region，VH），其余的氨基酸比较稳定，称为稳（恒）定区（Constant region，CH）。每个V区中均有一个由链内二硫键连接形成的肽环，每个肽环含67～75个氨基酸残基。V区氨基酸的组成和排列随抗体结合抗原的特异性不同有较大的变异，由于V区中氨基酸的种类为排列顺序千变万化，故可形成许多种具有不同结合抗原特异性的抗体。在重链的可变区内，有4个区域的氨基酸组成和排列顺序的变异度最大，称为高（超）变区（Hypervariable region），氨基酸残基位置分别位于31～37，51～58，84～91，101～110。其余的氨基酸组成和排列相对比较保守、变化较小，称为骨架区（Framework region）。免疫球蛋白的重链有5种类型γ，μ，α，ε，δ，由此决定了免疫球蛋白的类型，即IgG，IgM，IgA，IgE和IgD。经X线结晶衍射的研究分析证明，高变区为抗体与抗原结合的位置，因而称为决定簇互补区（Complementarity－determining regi－on，CDR）。高变区也是Ig分子独特型决定簇（Idiotypic determinants）主要存在的部位，H链在与抗原结合中起更重要的作用。

（二）轻　链

轻链大约由214～214个氨基酸残基组成，通常不含碳水化合物，分子量约为24 kD。每条轻链含有两个由链内二硫键内二硫所组成的环肽。两条相同的轻链其羧基端（C端）靠二硫键分别与两条重链连接。轻链从氨基端开始最初的109个氨基酸（约占轻链的1/2）的排列顺序及结构是随抗体分子的特异性变化而有差异，称为轻链的可变区（VL），与重链的可变区相对应，而构成抗体分子的抗原结合部位，其余的氨基酸比较稳定，称为恒定区（CL）。在轻链的可变区内部有3个高变区。免疫球蛋白的轻链根据其结构和抗原性的不同可分为κ（kappa）型和λ（lambda）型，κ型和λ型轻链的差别主要表现在C区氨基酸组成和结构的不同，因而抗原性不同，这也是轻链分型的依据。同一个天然Ig分子上L链的型总是相同的。正常人血清中的κ:λ弘约为2:1。

重链的C区较长，分别命名为C_{H1}、C_{H2}、C_{H3}和C_{H4}，其中C_{H1}与轻链的

C 区相连接，C_{H2}、C_{H3}和 C_{H4}则分别与另一条重链的相应部位连接，由此构成了对称的 Y 型结构。在 C_{H1}和 C_{H2}之间存在一个可转动的绞链区，含有大约 30 个氨基酸残基，其中富含半胱氨酸和脯氨酸，由于脯氨酸可阻止肽链形成 α 螺旋，由此使肽链呈展开状，利于免疫球蛋白分子的变构。铰链区位于 CH1 和 CH2 之间，铰链区不是一个独立的功能区，但它与其客观存在功能区有关。不同 H 链铰链区含氨基酸数目不等，α1、α2、γ1、γ2 和 γ4 链的铰链区较短，只有 10 多个氨基酸残基；γ3 和 δ 链的铰链区较长，约含 60 多个氨基酸残基，其中 γ3 铰链区含有 14 个半胱氨酸残基。IgM 和 IgE 则缺乏铰链区。

（三）功能区及其作用

Ig 分子的 H 链与 L 链可通过链内二硫键折叠成若干球形功能区，每一功能区（Domain）约由 110 个氨基酸组成，在功能区中氨基酸序列有高度同源性。L 链分为 L 链可变区（VL）和 L 链恒定区（CL）两功能区。IgG、IgA 和 IgD 的 H 链各有一个可变区（VH）和三个恒定区（CH1、CH2 和 CH3）共四个功能区。IgM 和 IgE 的 H 链各有一个可变区（VH）和四个恒定区（CH1、CH2、CH3 和 CH4）共五个功能区。IgL 链和 H 链中 V 区或 C 区每个功能区各形成一个免疫球蛋白折叠（Immunoglobulin fold，Ig fold)，每个 Ig 折叠含有两个大致平行、由二硫连接的 β 片层结构（Betapleated sheets)，每个 β 片层结构由 3～5 股反平行的多肽链组成。可变区中高变区在 Ig 折叠的一侧形成高变区环（Hypervariable loops)，这是与抗原结合的位置。

VL 和 VH 是与抗原结合的部位，其中 HVR（CDR）是 V 区中与抗原决定簇（或表位）互补结合的部位。VH 和 VL 通过非共价相互作用，组成一个 FV 区。CL 和 CH 上具有部分同种异型的遗传标记。IgGCH 具有补体 Clq 结合点，能活化补体的经典活化途径。母体 IgG 借助 CH2 部分可通过胎盘主动传递到胎体内。IgGCH3 具有结合单核细胞、巨噬细胞、粒细胞、B 细胞和 NK 细胞 Fc 段受体的功能。IgMCH3（或 CH3 因部分 CH4）具有补体结合位点。IgE 的 Cε2 和 Cε3 功能区与结合肥大细胞和嗜碱性粒细胞 FCεRI 有关。

（四）单体、双体和五聚体

由一对 L 链和一对 H 链组成的基本结构形式为单体形式（如 IgG、IgD、IgE 和血清型 IgA)。由 J 链连接的两个单体构成双体形式（如分泌型 IgA)，二聚体 IgA 结合抗原的亲合力（avidity）要比单体 IgA 高。由 J 链和二硫键连接五个单体形成五聚体（如 IgM)。在 J 链存在下，通过两个邻近单体

IgMμ 链 Cys 之间以及 J 链与邻 μ 链 Cys575 之间形成二硫键组成五聚体。μ 链 Cys414（Cμ3）和 Cys575（C 端的尾部）对于 IgM 的多聚化极为重要。由黏膜下浆细胞所合成和分泌的 IgM 五聚体，与黏膜上皮细胞表面 pIgR（poly - Ig receptor，pIgR）结合，穿过黏膜上皮细胞到黏膜表面成为分泌型 IgM（secretory IgM）。

抗体分子有单体、双体和五聚体的形式，因此结合抗原决定簇的数目（结合价）也不相同。Fab 段为单价，不能产生凝集反应和沉淀反应。F（ab'）2 和单体 Ig（如 IgG、IgD、IgE）为双价，双体分泌型 IgA 有 4 价。五聚体 IgM 则一般只有 5 个结合点可结合抗原。

（五）免疫球蛋白的酶解片段

利用蛋白酶将免疫球蛋白裂解成若干片段，可以更加深入的了解免疫球蛋白的结构。Porter 等人最早用木瓜蛋白酶（Papain）水解兔 IgG，将 IgG 铰链区 H 链链间二硫键近 N 端侧切断，得到 Ig 四肽链的基本结构和功能。

经层析得到三个片段，包括两个抗原结合片段（Fragment of antigen binding，Fab），Fab 段分子量为 54 kD，每个 Fab 段由一条完整的 L 链和一条约为 1/2 的 H 链组成。一个完整的 Fab 段可与抗原结合而表现为单价，但不能形成凝集或沉淀反应。Fab 中约 1/2H 链部分称为 Fd 段，约含 225 个氨基酸残基，包括 VH、CH1 和部分铰链区；一个可结晶片段（Fragment crystallizable，Fc），Fc 段由两条重链的剩余部分，连接 H 链的二硫键和近羧基端两条约 1/2 的 H 链所组成，不能结合抗原，其分子量约 50 kD。Ig 在异种间免疫所具有的抗原性主要存在于 Fc 段。

若用胃蛋白酶（Pepsin）裂解免疫球蛋白，其在铰链区 H 链链间二硫键近 C 端将其切断，可以得到一个大分子［F（ab'）$_2$］和一些小的多肽碎片（Fc'）。F（ab'）$_2$ 具有双价抗体活性，与抗原结合可发生凝集和沉淀反应。一对完整的 L 链和由链间二硫键相连一对略大于 Fab 中 Fd 的 H 链，称为 Fd'，包括 VH、VH1 和铰链区，约含 235 个氨基酸残基。双价的 F（ab'）$_2$ 与抗原结合的亲合力要大于单价的 Fab。虽然 F（ab'）$_2$ 与抗原结合特性方面同完整的 Ig 分子一样，但由于缺乏 Ig 中部分，因此不具备固定补体以及与细胞膜表面 Fc 受体结合的功能。Fc'则可继续被胃蛋白酶水解成更小的片段，失去其生物学活性。

二、免疫球蛋白分子的功能

免疫球蛋白所具有的功能是由其分子中不同功能区的特点所决定的，它是体液免疫应答中发挥免疫功能最主要的免疫分子。

（一）特异性

免疫球蛋白分子具有的一个重要的功能是能够特异性地与相应的抗原相结合（如寄生虫、病毒、细菌、某些药物或侵入机体异物）。免疫球蛋白的这种特异性结合抗原功能是由其 V 区，尤其是 V 区中的高变区，空间构成所决定的。免疫球蛋白的抗原结合位点由 L 链和 H 链的超变区组成，与相应抗原上的表位互补，依靠次级键的力相结合，但这种结合是可逆的，并受环境条件的影响比较大。在在有些情况下，可发生交叉反应，由不同抗原分子上有相同的抗原决定簇，或有相似的抗原决定簇，一种抗体可与两种以上的抗原发生反应。

成熟 B 细胞主要表达 SmIgM 和 SmIgD，B 细胞表面 Ig（SmIg）是特异性识别抗原的受体，同一 B 细胞克隆表达不同类 SmIg 其识别抗原的特异性是相同的。

（二）活化补体

IgG1、IgG2、IgG3 和 IgM 均可参与到补体活化的经典途径当中，抗体与相应抗原结合，IgG 的 CH2 和 IgM 的 CH3 即可暴露出结合 Clq 的补体结合位点，补体的活化过程被启动。由于 Clq 的 6 个亚单位中一般需要 2 个 C 端的球与补体结合点结合后才能依次活化 Clr 和 Cls，因此 IgG 对补体的活化需要有一定的浓度保证，以使得两个相邻的 IgG 单体同时与 1 个 Clq 分子的两个亚单位结合。当 Clq 两个或两个以上球部结合两个或多个 IgG 分时，其亲合力高于 Clq 一个 C 端球部结合 IgG。人类天然的抗 A 和抗 B 血型抗体为 IgM，血型不符合引起的输血反应发生快而且严重。另外，凝聚的 IgA、IgG4 和 IgE 等可通过替代途径参与补体的活化过程。

（三）结合 Fc 受体

不同 Ig 的 Fc 受体存在于不同细胞的表面，分别用 Fc 銻、Fc 鈴、Fc 酭等来表示。当 Ig 与相应抗原结合后，使其构型发生变化，其 Fc 段与细胞表面上具有的相应受体相结合。IgE 抗体由于其 Fc 段结构特点，可在游离情况下与有相应受体的细胞，如嗜碱性粒细胞、肥大细胞等相结合，称其为亲细胞抗体（Cytophilic antibody）。抗体与 Fc 受体结合可发挥不同的生物学作用。

1. 具有调理吞噬的作用

抗体具有调理的作用，抗体在抗原颗粒和吞噬细胞之间摯钋艭，使吞噬细胞的吞噬作用加强，接着抗体与相应颗粒性抗原结合，使抗原表面的电荷发生变化，吞噬细胞与抗原之间相互的静电斥力有所降低。抗体中和了一些细菌表面的抗吞噬物质（如肺炎双球菌的荚膜），使吞噬细胞易于吞噬，吞

噬细胞 FcR 结合抗原抗体复合物，吞噬细胞即被活化。当抗体、补体 C3b、C4b 等调理素（Opsonin）对吞噬细菌等颗粒性抗原的作用有所促进为调理作用（Opsonization），其中补体对热不稳定，因此又称为热不稳定调理素，抗体则对热稳定，补体与抗体可以同时联合发挥调理吞噬作用。

嗜酸性粒细胞具有亲和力 FcγRⅡ，IgE 与相应抗原结合后可促进嗜酸性粒细胞的吞噬作用。中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞具有高亲和力或低亲和力的 FcγⅠ（CD64）和 FcγⅡ（CD32），IgG 尤其是人 IgG1 和 IgG3 亚类对于调理吞噬起主要作用。

2. 引发超敏反应

变应原刺激机体产生 IgE，IgE 可与肥大细胞、嗜碱性粒细胞表面的 IgE 高亲力受体细胞脱颗粒，由此释放出组胺物质。当相同的变应原再次进入机体时，可与已固定在细胞膜上的 IgE 结合，刺激细胞脱颗粒释放组胺，合成由细胞脂质来源的介质（如白三烯、前列腺素、血小板活化因子等），由此引发Ⅰ型变态反应的发生。

3. 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用

当 IgG 抗体与带有相应抗原的靶细胞结合后，可与有 Fc 鉮的中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、NK 细胞等效应细胞结合，发挥抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用（Antibody dependent cell - mediatedcytotoxicity，ADCC）。研究表明，NK 细胞通过其膜表面低亲和力 FcγⅢ（CD16）的介导使 NK 细胞发挥 ADCC 效应，IgG 起到刺激 NK 细胞合成和分泌肿瘤坏死因子及 γ 干扰素等细胞因子，并释放颗粒，溶解靶细胞并可连接靶细胞和效应细胞。嗜酸性粒细胞通过其 FcεRⅡ和 FcαR 的介导而发挥 ADCC 的作用，嗜酸性粒细胞可脱颗粒释放碱性蛋白等，在杀伤寄生虫如蠕虫中发挥重要作用。人 IgGFc 段能非特异地与葡萄菌 A 蛋白（Staphylococcus proteinA，SPA）结合，应用 SPA 可纯化 IgG 等抗体，或代替第二抗体用于标记技术。

（四）通过胎盘

人类的 IgG 是唯一可通过胎盘从母体转移给胎儿的免疫球蛋白物质，IgG 选择性地与胎盘母体一侧的滋养层细胞结合，转移到滋养层细胞的吞饮泡内，并主动外排到胎儿血循环中。IgG 的这种功能与 IgGFc 片段结构有关，但切除 Fc 段后所剩余的 Fab 并不能通过胎盘。IgG 通过胎盘的作用是一种重要的自然被动免疫，对于新生儿抗感染有重要作用。

三、免疫球蛋白分子的血清型

免疫球蛋白分子本身具有抗原性，若首先将免疫球蛋白分子作为抗原，

用其对异种动物、同种异体或自体内进行免疫，均可引起不同程度的免疫反应。再根据存在于不同部位的 IgI 不同的抗原决定簇、以及在异种或同种异体、自体中产生免疫反应差别的不同，可将免疫球蛋白的抗原性区分为同种型、同种异型和独特型三种不同抗原决定簇。

（一）同种型

同一种属内所有个体共有的 Ig 抗原的特异性标记称为同种型，同种型的抗原特异性因种属的不同而不同，异种体内可诱导产生其相应的抗体。同种型的抗原性位于 CH 和 CLH，同种型主要包括 Ig 的类、亚类，型和亚型。类是指决定免疫球蛋白，不同类的抗原性差异存在于 H 链的恒定区（CH）。H 链又可分为 μ、γ、α、δ 和 ε 五类，不同 H 链与 L 链组成完整 Ig 的分子，它们分别是 IgM、IgA、IgD 和 IgE。从基因角度上看，不同类的 H 链恒定区，是由不同的恒定区基因片段所编码的，不同类 Ig 在理化性质及生物学功能上可有较大差异。亚类则是指在同一类免疫球蛋白中，根据铰链区氨基酸组成和二硫键数目的差异不同，可区分为不同的亚类（如人的 α 重链有 α1 和 α2 两个亚类、γ 重链有 4 个亚类），亚类间抗原性的差异要小于不同类之间抗原性的差异。但目前尚未发现 IgM、IgD 和 IgG 存在不同的亚类，免疫球蛋白不同亚类也是由不同的恒定区基因片段编码。

免疫球蛋白的型是指决定免疫球蛋白型的抗原性差异，存在于 L 链的恒定区（CL）。免疫球蛋白的亚型则是根据 λ 轻链恒定区（C2）个别氨基酸的差异又可分 λ1、λ2、λ3 和 λ4 四个亚型。λ1 和 λ2 在 λ 轻链 190 位的氨基酸分别为亮氨酸和精氨酸，λ3 和 λ4 在第 154 位氨基酸分别为丙氨酸和丝氨酸。

（二）同种异型

同一种属不同个体间的免疫球蛋白分子抗原性的不同为同种异型，在同种异体间进行免疫可诱导免疫反应的发生。同种异型抗原性的差别通常只是一个或几个氨基酸残基的不同而造成的，免疫球蛋白结构的编码基因发生点突变可能是致使其发生的原因，并可稳定地世代遗传下来，所以可将免疫球蛋白的同种异型性作为一种遗传标记（Genetic markers），这种标记主要分布在 CH 和 CL 上。γ 链分为 γ1、γ2 和 γ3，γ1、γ2γ3 和 λ4 重链上均存在有同种异型标记，目前已发现 Glma、G2mn 、G3mg、x、f、z（G 表示 λ 链，1、2、3 或 4 表示亚类 λ1、λ2、λ3 和 λ4，m 代表标记）等共 20 多种左右。

α2H 链已发现有 A2m1 和 A2m2 两种类型，其中在 411、428、458 和 467 位点 A2m1 的氨基酸分别为苯丙氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、缬氨酸，而 A2m2 则分别为苏氨酸、谷氨酸、异亮氨酸和丙氨酸。目前在 ε 链上只发现 Em1 一种同种异型。Km1 在 153 位和 191 位的氨基酸分别为缬氨酸和亮氨

酸，Km2 分别为丙氨酸和亮氨酸，Km3 分别为丙氨和缬氨酸。但目前 α1H 链和 λ 轻链上尚未发现有同种异型存在。除 Glmf 和 z 位于 IgG1 分子的 Cγ1 区外，其余的 Gm 均位于 Fc 部位。一条 γ 链可能同时具有一个以上的 Gm 标志。由于人的第 14 号染色体编码四种 IgG 亚类的 C 区基因 Cγ1、Cγ2、Cγ3 和 Cγ4 是密切连锁的，因此 IgGH 链各亚类 Gm 标记可作为间倍体（Haplotype）遗传给子代。

（三）独特型

独特型（Idiotype）是指每个免疫球蛋白分子所特有的抗原特异性标志，由 Fv 的超变区特殊的氨基酸序列及其构型决定。由于可变区中超变区的氨基酸组成、排列和构型不同，决定了不同抗体形成细胞克隆所产生的 IgV 区具有与其客观存在抗体 V 区不同的抗原性，不同克隆抗体生产细胞产生免疫球蛋白的独特性各不相同，反映了抗体形成细胞遗传上的差异，可作为个体免疫球蛋白分子的独特遗传标志。单一个体内所存在的独特型数量很大。独特型的抗原决定簇称为独特位（Idiotope），可在异种、同种异体以及自身体内诱产生相应在的抗体，称为抗独特型抗体（Antiidiotypic antibody，αId），独特型和抗独型抗体可形成复杂的免疫调节中占有得要地位。

第三节　免疫球蛋白超家族

免疫球蛋白超家族（Immunogloblin superfamily，IGSF）是指一系列在结构上含有与免疫球蛋白 V 区以及 C 区结构和功能均相似的蛋白分子。基因序列与免疫球蛋白基因同源或相关的一系列基因称为免疫球蛋白基因超家族，不管其蛋白结构的特征，所以有些基因超家族成员编码的蛋白可以不含有典型的免疫球蛋白结构的功能区。经核酸序列分析和晶体衍射分析结果表明，许多细胞膜表面以及机体内某些蛋白质分子的多肽链折叠方式与 Ig 相似，在核酸水平和氨基酸序列上与 IgV 区或 C 区有较高的同源性，它们可能从同一原始祖先基因经复制和突变衍生而来。

一、免疫球蛋白超家族的组成

免疫球蛋白超家族中主要包括有 T 细胞和 B 细胞的抗原识别受体和信号传导分子，Ig 受体，某些细胞因子受体，MHC 及相关分子，神经系统功能相关分子，以及部分白细胞分化抗原（CD）。随着细胞表面标记、单克隆抗体以及基因工程研究的进展，近年来发现属于 IGSF 的成员已达近百种。如 IgH 链的 μ、γ、δ、ε 和 α 链；IgL 链的 κ 和 λ 链；SmIg 复合物成分中的

MG－1（Ig－α，CD79a）、B29（Ig－β，CD79b）；TCR 中的 α、β、γ 和 δ 链；CD3 中的 γ、δ 和 ε 链，均为抗原识别受体和信号传导分子。MHC 及其相关分子包括 MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类抗原及 β2M 相关分子。免疫球蛋白受体包括 PolyIgR（pIgR）、IgG Fc 段受体、Ige Fc 段受体及 IgE Fc 段受体等。

二、免疫球蛋白超家族的特点

免疫球蛋白超家族的成员均含有 1～7 个 Ig 样功能区，Ig 样功能区约含 100 个左右的氨基酸残基。功能区的二级结构是由 3～5 个反向平行的 β 折叠各自形成两个平行的 β 片层平面，每个反平行 β 折叠股由 5～10 个氨基酸基组成，β 片层内侧的疏水性氨基酸起到稳定 Ig 折叠的作用，大多数功能区内有一个二硫键，垂直连接两个 β 片层，形成二硫键的两个半胱氨酸间有 55～75 个氨基酸残基，使之成为一个球形结构，肽链的这种折叠方式称为免疫球蛋折叠（Ig fold）。根据 IGSF 功能区中 Ig 折叠方式、两个半胱氨酸之间氨基酸残基的数目以及与 IgV 区或 C 区同源性的程度，IGSF 功能区可分为 V 组、C1 组和 C2 组。

V 组功能区的两个半胱氨酸之间含 65～75 个氨基酸残基，有 9 个反平行 β 折叠股（如 IgH 链和 L 链 V 区，TCRα、β、γ、δ 链 V 区，CD4v 区，CD8α、β 链 V 区，Thy－1，pIgR 和分泌成分（SC）N 端四个功能区，CEAN 端第一个功能区，PDGFR 靠近胞膜的功能区等）。C1 组功能区二个半胱氨酸之间约含 50～60 个氨基酸残基，有 7 个 β 折叠股，如 IgH 链和 L 链 C 区（γ、δ 和 α 链的 CH1～CH3 或 μ 和 ε 链的 CH1～CH4），TCRα、β、γ、δ 链 C 区，MHc Ⅰ类分子重链 α3 功能区，β2M，MHC Ⅱ类分子 α2 和 β2 功能区，CD1、Qa 和 TL 靠近胞膜功能区等。C2 组功能区的氨基酸排列的顺序类似 V 组，但形成二硫键的两个半胱氨酸之间所含氨基酸残基数约为 50～60，有 7 个 β 折叠股，这种结构介于 V 组和 C1 组之间，如 CD3γ、δ 和 ε 链，CD2 和 LFA－3（CD58），pIgR 靠近胞膜功能区，FcγR Ⅰ、FcγR Ⅱ、FcγR Ⅲ、FcεR Ⅰ α 链、FcαR，ICAM－1，CEA 第 2 至第 7 个功能区，IL－6R、M－CSFR、G－CSFR、SCFR。PDGFR 第 1 至第 4 功能区，以及 N－CAM、CD22、CD48 分子等。免疫球蛋白超家族很可能最起源于原始的具有粘功能的基因，通过复制和突变衍生形成了识别抗原、细胞因子受体、IgFc 段受体、细胞间黏附分子以及病毒受体等不同的功能区。免疫球蛋白超家族的功能是以识别为基础，因此又称为识别球蛋白超家族，IGSF 识别的基本方式有：IGSF 和 IGSF 之间的相互识别：①同嗜性相互作用（如相同神经细胞黏附分子之间的相互识别，血小板内皮细胞黏附分子－1 的相互识

别)。②异嗜性相互作用，如 CD2 与 LFA-3，CD4 与 MHC Ⅱ类分子的单态部分（α2 和 β2），CD8 与 MHC Ⅰ类分子的单态部分（α3），poly IgR 与多聚 Ig，FcγR Ⅰ（CD64）、FcγR Ⅱ（CD32）、FcγR Ⅲ（CD16）与 IgG Fc 段，FcγR Ⅰ与 Ige Fc 段，FcαR（CD89）与 IgA Fc 段，CD28 与 B7/BB1（CD80）等之间的相互识别。还有 IGSF 和结合素相互识别：如 ICAM-1（CD54）、ICAM-2（CD102）与 LFA-1（CD11a/CD18），VCAM-1（CD106）与 VLA-4（CD49d/CD29）之间的相互作用。③为 IGSF 和其他分子的相互识别（包括 TCR 识别 MHC Ⅰ类或Ⅱ类分子与抗原复合物，细胞因子受体识细胞因子等）。

第四节　各类免疫球蛋白的特性与功能

一、IgG

IgG 是血清中含量最多的免疫球蛋白类型，占人血清球蛋白总量的 80% 左右，IgG 主要由脾、淋巴结中的浆细胞合成并分泌，在人血清中的含量为 12 mg/mL，合成速率为 33 mg/kg 体重。IgG 分子为单体形式，由两条轻链和两条重链组成，相对分子质量为 1.5×10^5。在个体发育过程中机体合成 IgG 的年龄要晚于 IgM，在出生后第 3 个月开始合成，3～5 岁接近成年人水平。人类的 IgG 共有四个亚类，分别为 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。而存在于小鼠体内的 4 个亚类分别为 IgG1、IgG2a、IgG2b 和 IgG3。其中 IgG3γ3 铰链区含有 62 个氨基酸残基，具有 4 个重复 γ1 铰链区（15 个氨基酸残基）的串连结构，重链间二硫键数量多，为 10～15 个，因此易被蛋白酶裂解，半衰期也较短。IgG 可通过经典途径活化补体。

IgG 是主要的抗感染抗体，是机体再次免疫应答后形成的抗体的主要组分，在机体防御机制中发挥主要的作用。由于血清中 IgG 的含量较高，分布较广，并易于透过毛细血管壁进入到组织间隙中，IgG 是唯一能通过胎盘的免疫球蛋白，在自然被动免疫中起重要作用。IgG 还具有调理吞噬、ADCC 和结合 SPA 等作用。因此对麻疹、甲型肝炎等有免疫力的产妇或正常人丙种或胎盘球蛋白可进行人工被动免疫，能有效地预防相应的传染性疾病。不少自身抗体如系统性红斑狼疮的 LE 因子（抗核抗体）、抗甲状腺球蛋白抗体以及引起Ⅲ型变态反应免疫复合物中的抗体大都也属于 IgG。

二、IgM

IgM 占人血清总量的 5%～10%，平均浓度为 1.5 mg/mL，合成速率为

6. 7 mg/kg 体重。血清中 IgM 是由 5 个单体通过一个 J 链和二硫键连接成五聚体，分子量最大，为 970 kD，不能透过血管壁。IgM 单体为膜结合型，存在于未成熟的 B 细胞表面，IgM 是体液免疫应答中首先产生的免疫球蛋白，主要在脾细胞中合成，再分泌到血液中。IgM 的分子结构中无铰链区的结构，在生物进化过程中 IgM 是最早出现的免疫球蛋白，胚胎发育到晚期的胎儿即有能力产生 IgM。

在抗原刺激诱导体液免疫应答过程中，一般最先产生 IgM。由于 IgM 在免疫应答早期产生，并在补体参与下的溶血作用比 IgG 强 500 倍以上，而且活化补体后通过 C3B、C4b 等片段发挥调理作用，因此 IgM 在机体的早期免疫防护中占有重要地位。天然的血型抗体（凝集素）为 IgM，血型不符的输血，易发生严重的溶血反应。膜表面 IgM 是 B 细胞识别抗原受体中一种主要的 SmIg。成熟 B 细胞有 SmIgD，在正常人 B 细胞库（Bcell repretorire）中 SmIgM + B 细胞约占 80%。在记忆 B 细胞中 SmIgM 逐渐消失，被 SmIgG、SmIgA 或 SmIgE 所替代。

IgM 不能过胎盘，但其可以在腺体组织的黏膜中产生，由此可使分泌液中有少量 IgM 存在。脐血中如出现针对某种病原微生物的 IgM，表示胚胎期有相应病原微生物如梅毒螺旋体、风疹或巨细胞毒等感染，称为胚胎感染或垂直感染。正常人血清中也含有少量单体 IgM。

三、IgA

IgA 在血清中只占免疫球蛋白的 10% ~15%，合成速率为 24 mg/kg 体重，IgA 是外分泌型抗体，因此其广泛的存在于机体的外分泌液中。血清中的 IgA 主要以单体形式存在，也有二聚体、三聚体和四聚体的存在形式。IgA 主要由黏膜相关淋巴样组织产生，其中大部分是由胃肠淋巴样组织所合成，少部分由呼吸道、唾液腺和生殖道黏膜组织合成。哺乳期产妇腺组织含有大量 IgA 产生细胞，这些细胞主要来自胃肠。人类中还有少量的 IgA 来自骨髓。人出生后 4 ~6 月开始合成 IgA，4 ~12 岁血清中含量达成人水平，

IgA 有 IgA1 和 IgA2 两个亚类，IgA1 主要存在于血清中，约占血清中 IgA 的 85%，α1 链分子量为 56 kD；IgA2 主要存在于外分泌液（初乳、唾液、泪液、胃肠液、支气管分泌等）中，少部分以血清型 IgA 存在，约占血清中 IgA 的 15%，α2 链缺乏铰链区，分子量为 52 kD。分泌型 IgA 通过与相应的病原微生物，如脊髓灰质炎病毒相结合，阻抑其吸附到易感细胞上，分泌型 IgA 还可中和毒素如霍乱弧菌毒素和大肠杆毒素等。

分泌型 IgA 在黏膜表面有非常重要的功能，因为大部分生物病原都从黏

膜表面入侵到机体。sIgA 为二聚体，能与有重复抗原决定簇的大分子抗原结合，sIgA 结合到细菌或病毒的表面抗原，有效的防止病原吸附在黏膜表面，由此抑制了病毒的感染和细菌的增殖。分泌型 IgA 具有免疫排除的功能，当抗原与 sIgA 相结合后易于被黏液捕获，再通过呼吸道的纤毛或胃肠道的蠕动排出到体外。如新生儿易患呼吸道、胃肠道感染可能与 IgA 合成不足有关，慢性支气管炎发作与分泌型 IgA 的减少也有一定关系，产妇可通过初乳将分泌型 IgA 传递给婴儿，这也是一种重要的自然被动免疫。嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和巨噬细胞表达 Fc 酶，血清型单体 IgA 可介导调理吞噬和 ADCC 作用。

四、IgD

IgD 是从多发性骨髓瘤病人的血清中发现的，占血清中总 Ig 的 0.2% 左右，其在血清中的含量为 30 μg/mL。IgD 分子量为 175 kD，主要由扁桃体、脾等处浆细胞产生，在个体发育中合成较晚。IgD 铰链区很长，对蛋白酶水解敏感，易于被胰酶降解为 Fab 和 Fc 片段，因此 IgD 半衰期很短，仅 2.8 天。血清中 IgD 确切的免疫功能尚不清楚，IgD 不能通过胎盘也不能激活补体。在 B 细胞分化到成熟 B 细胞阶段，除了表达 SmIgD，抗原刺激后表现为免疫耐受，成熟 B 细胞活化后或者活化后或者变成记忆 B 细胞时，SmIgD 逐渐消失。

五、IgE

血清中的 IgE 含量极低，仅占血清总 Ig 的 0.002%，分子量为 188 kD，在个体发育中合成较晚。IgE 主要由鼻咽部、扁桃体、支气管、胃肠等黏膜固有层的浆细胞产生，这些部位常是变应原入侵和 I 型变态反应发生的场所。ε 链有 4 个 CH（Cε1 ~ Cε4），无铰链区，含有较多的半胱氨酸和甲硫氨酸。对热敏感，在 56 ℃、30 min 的条件下便可使 IgE 丧失生物学活性。IgE 为单体形式，其 Fc 段比 IgG 多一个结构域，能够结合到存在于血液中的嗜碱性粒细胞和组织中的肥大细胞表面的 IgE 的 Fc 受体上，当抗体与变应原结合后，诱导嗜碱性粒细胞或肥大细胞脱颗粒，释放组胺等活性物质，由此发生过敏反应症状。当变应原再次进入机体与已固定在嗜碱性粒细胞、肥大细胞上 IgE 结合，可引起 I 型变态反应。寄生虫感染或过敏反应发作时，局部的外分泌液和血清中 IgE 水平都明显升高。

第五节　免疫球蛋白基因的结构和抗体多样性

具有抗原决定簇结合特异性的很多种球蛋白分子总称为免疫球蛋白，多

样性是免疫球蛋白具有的重要特点。因为抗原的种类很多，每种抗原上又有不同的抗原决定簇，由此可见，具有各种特异性的免疫球蛋白分子的种类必然是一个非常庞大的数字，其相对应的基因的数量也应该相当庞大，但实际上，在脊椎动物中并没有如此庞大数量的基因来表达如此巨大数量的不同特异性蛋白。研究发现，免疫球蛋白分子是由三个不连锁的 Igκ、Igλ 和 IgH 基因所编码，Igκ、Igλ 和 IgH 基因定位于不同的染色体上，是由于基因重排的结果才产生出如此庞大数量的不同的免疫球蛋白。B 细胞胚系 DNA 上有许多组成免疫球蛋白分子的基因，这些基因在受到不同抗原刺激后发生重排，随机重排可以达到 10^8 ~ 10^{10}以上不同序列的基因，由重排的基因转录，翻译大量的具有不同特异性的免疫球蛋白。

一、免疫球蛋白重链基因的结构和重排

（一）重键 V 区的基因

重键 V 区的基因是由 V、D、J 三种基因片段经重排后所组成的。H 链 V 区基因由 V 基因片段、D 基因片段和 J 基因片段所组成。小鼠的 VH 基因段为 250 ~ 1 000，人的 VH 基因片段约为 100。V 基因片段编码 VH 的信号序列和 V 区靠 N 端 98 个氨基酸残基，包括 CDR1 和 CDR2。D 基因片段仅存在于 H 链，但却不存在于 L 链，具有多样性。小鼠 DH 共有 12 个片段，人的 DH 片段的数目还不完全清楚，可能有 10 ~ 20 个左右。D 片段编码 H 链 CDR3 中大部分氨基酸残基。J 具有连接的意思，JH 连接 V 基因片段和 C 基因片段。小鼠 JH 有 4 个，人有 9 个 JH 片段，其中 6 个是有功能的。J 基因片段编码 CDR3 的其余部分氨基酸残基和第 4 个骨架区。H 链 V 区的基因可以发生移位，首先发生 D 与 J 基因片段的连接形成 D - J，然后 V 基因片段与 D - J 基因片段连接。H 链 V 区基因的易位和连接是通过七聚体—间隔序列—九聚体识别信号和重组酶而完成的。

（二）重链 C 区基因

C 基因片段小鼠 H 链区基因片从 5′端到 3′排列的顺序是 Cμ - Cδ - Cγ3 - Cγ1 - Cγ2b - Cε - Cα2，人 H 链 C 区基因的顺序为 Cμ - Cδ - Cγ3 - Cγ1 - Cε2（pseudo 基因） - Cα2 - Cγ2 - Cγ - Cε - Cα2。免疫球蛋白的类别可以发生转换，当一个 B 细胞克隆在分化过程中，其 V 基因不发生改变，而由于 CH 基因片段不同重排，比较 CH 基因片段重排后基因编码的产物，其 V 区相同而 C 区不同，即识别抗原的特异性相同，而 Ig 的类或亚类发生改变。Ig 可能是通过缺失模式和 RNA 剪接两种机制来实现类别的转换。

（三）膜表面 Ig 重链基因

B 细胞识别抗原的受体就是膜表面免疫球蛋白（SmIg）。膜表面免疫球蛋白和分泌性免疫球蛋白的 H 链结构相类似，所不同的是 smIgH 名字的羧基端多含一段穿膜的疏水性氨基酸残基和胞浆区。因此 SmIgH 链的转录本（Transcript）要比分泌性 IgH 链转录本多 1～2 个外显子。编码 H 链的羧基端部分，其氨基酸残基的的数目视 H 链不同而有差异，如在小鼠或人 SmIgμ 链的这一部分长约 41 个氨基酸残基，而小鼠 SmIgε 链此区域却有 72 个氨基酸残基。这个区域有三个部分，包括有一个酸性间隔子，与 H 链最后一个 CH 功能区相同，位于胞膜外侧；还含 26 个氨基酸残基的疏水区，为穿膜部分；胞浆内部分，3～28 个氨基酸残基不等。

二、免疫球蛋白轻链基因的结构和重排

在免疫球蛋白轻链基因发生重排后，L 链可变区基因片段也随之发生重排。在 L 链中，κ 链基因先发生重排，如果 κ 基因重排无效，随即发生 λ 基因的重排。L 链匠 CDR1、CDR2 和大部分 CDR3 由 Vκ 或 Vλ 基因片段所编码（Vκ 编码95 个氨基酸残基），Jκ 或 Jλ 基因片段编码 CDR3 的其余部分和第四个骨架区（Jλ 编码从 96 位到 108 位氨基酸），L 链无 D 基因片段。

κ 链基因是 V 基因片段（Vκ）、J 基因片段（Jκ）和 C 基因片段（Cκ）重排后组成。小鼠 Vκ 基因片段约有 250，Jκ 有 5 个（其中 4 个功能），Cκ 只有 1 个。人 Vκ 基因片段约有 100 个，Jκ 有 5 个。Cκ 也只有 1 个。Vκ 与 Cκ 之间以随机方式发生重排。κ 链基因也是由 Vλ、Jλ 和 Tλ 基因片段经重排后组成。小鼠 Vλ 基因片段有 3 个：Vλ1、VλX；4 个 Jλ 和 4 个 Cλ 基因片段，分为（Jλ2Cλ2，Jλ4Cλ 和 Jλ3Cλ3，Jλ1Cλ1）两组。它们的基因重排比较复杂。人 Vλ 约有 100 个，至少有 6 个 Cλ 与各自的 J 基因片段相连，人 λ 链确切的重排情况还不清楚。

三、抗体多样性的遗传学基础

由于机体对外界环境中种类众多的抗原的刺激可产生出多种相应的特异性抗体，推算出抗体的多样性在 107 以上，其抗体多样性主要由基因控制。胚系（Germ line）中众多的 V、D、J 基因片段 胚系免疫球蛋白的基因在 B 细胞发育和分化的过程中，其所发生的重排是抗体多样性产生的主要来源。在胚系上，尚未重排的免疫球蛋白基因片段数量相当多，这是生物在长期进化中形成的。例如，小鼠胚系 DNAk 轻链基因片段含有 300 个 Vk 和 4 个 Jk 基因，然而重链基因片段有 500 个以上的 VH 基因和 4 个 JH 基因以及 20 个

DH 片段。除了 λ 链仅能组合为 6 个种类之外，其他的基因都可以进行随机的组合，由此至少可以形成有 107 种不同的抗原特异性的 V 区结构的免疫球蛋白。VDJ 的连接具有多样性，在 L 链基因重排过程中 V－J 连接位点有一定的变异范围，例如 VL 基因片段 3′端 5 个核苷酸 CCTCC 和 JL 基因片段 5′端 4 个核苷酸 CTGG 连接时，总共 9 个核苷酸中只有 6 个核苷酸编码 L 链第 95、96 位氨基酸，因此可产生 8 种不同的连接方式。在 H 链基因重排过程中 K－J 以及 V－D－J 连接时都可有连接多样性的存在。

体细胞在发育过程中可发生基因突变，以长期体外培养的 B 细胞前体为例，每个细胞每个碱基对的突变率约为 $1 \sim 43 \times 10^{-5}$，这种点突变主要发生在 V 基因。体细胞突变扩展了原有胚系众多基因片段重排的多样性。在 IgH 链基因片段重排过程中，有时可通过无模板指导的机制（Nontemplet directed mechanism），在重组后 D 基因片段的两侧即 VH－DH 或 DH－JH 连接处额外插入称为 N 区的几个核苷酸。N 区不是由胚系基因所编码。在 N 区插入前，先通过外切酶切除 VH－DH 或 DH－JH 连接处几个碱基对，然后通过末端脱氧核苷酸转移酶（Terminal deoxynucleotidyl transferase，TdT）连接上 N 区。由于额外插入了 N 区，可发生移码突变（Fuame shift mutation），使插入部位以及下游的密码子发生改变，从而编码不同的氨基酸，大大地增加了抗体的多样性。L 链 H 链相互随机配对，小鼠 H 链和 κ 链随机配对后推算其多样性可达 4.8×10^{7}，如果再加上 H 链与 λ 链的随机配对其多样性应更多了。

第六节　抗体的制备

目前，根据制备的原理和方法的不同所制备的抗体，可分为多克隆抗体、单克隆抗体及基因工程抗体三类。这些人工制备的抗体，为我们研究抗体的理化性质、分子结构与功能，以及应用抗体于临床疾病的诊断、治疗及预防都打下了牢固的基础。

一、单克隆抗体

（一）单克隆抗体的概念及特征

单克隆抗体是由单个 B 细胞克隆产生的、在分子上是同质的抗体。由于单克隆抗体的纯度高、特异性强、并且可以使应用各种血清学方法检测抗原的敏感性及特异性都有所提高。单克隆抗体的应用大促进了对各种传染病和恶性肿瘤诊断的准确性。单克隆抗体亦可用于对各种免疫细胞及其他组织

细胞表面分子的检测，这对免疫细胞的分离、鉴定及分类及研究各种膜表面分子的结构与功能都具有重要意义。但是单克隆抗体多为双价抗体，因此与抗原结合不易交联为大分子集团，故不易出现沉淀反应。

1975 年德国学者 Kohler 和英国学者 Milstein 将小鼠骨髓瘤细胞和经绵羊红细胞（Sheep rue blood cell，SRBC）免疫的小鼠脾细胞在体外进行两种细胞融合，结果发现部分形成的杂交细胞既能继续在体外培养条件下生长繁殖又能分泌抗 SRBC 抗体，称这种杂交细胞系为杂交瘤（Hybridoma）。由于体内免疫法很难获得单克隆抗体（Monoclonal antibody，McAb），因此如果能将所需要的抗体形成细胞选出并能在体外进行培养即可获得已知特异的单克隆抗体。但是杂交瘤细胞就既具有骨髓瘤细胞能大量无限生长繁殖的特性，又具有抗体形成细胞合成和分泌抗体的能力。它们是由识别一种抗原决定簇的细胞克隆所产生的均一性抗体，故称之为单克隆抗体。应用杂交瘤技术可获得几乎所有抗原的单克隆抗体，只要这种抗原能引起小鼠的抗体应答。这种用杂交瘤技术制备的单克隆抗体可视为第二代抗体。

单克隆抗体亦可与核素、各种毒素（如白喉外毒素或篦麻毒素）或药物通过化学偶联或基因重组制备成导向药物（Targetting drug）用于肿瘤的治疗，是一种新型免疫治疗方法，有可能提高对肿瘤的疗效。

（二）单克隆抗体的制备过程

1. 原理

骨髓瘤细胞是来自于人和动物的骨髓瘤细胞系，它在体外培养过程中失去了产生次黄嘌呤磷酸核糖转移酶（HGPRT）或者胸腺嘧啶核苷激酶（TK）的能力，其本身不能合成或者分泌免疫球蛋白，它可以和经抗原免疫的脾细胞进行融合（在化学融合剂或者电融合作用下），融合后的细胞可以在 HAT 特异培养基上生长，而骨髓瘤细胞不能在 HAT 培养基上生长，因为次黄嘌呤 H 会阻断 DNA 的合成，该细胞本身又缺乏 HGPRT 酶或 TK 酶，导致骨髓瘤细胞也不能利用旁路途径合成 DNA，因此骨髓瘤细胞死亡；脾细胞不是传代细胞，仅能存活几天，自然死亡。所以只有杂交瘤细胞存活下来，该种细胞既能产生抗体又能无限的增殖下去，可以用于单克隆抗体的制备。

2. 方法

基本程序如下：

制备免疫淋巴细胞：通常采用 BALB/C 小鼠，8～12 周龄，具体的免疫程序、途径和免疫剂量要根据抗原种类而定。

制备骨髓瘤细胞：通常要应用 BALB/C 小鼠来源的骨髓瘤细胞系。

进行细胞融合：融合的方法具体实验室不同，依个人习惯而定。

杂交瘤细胞的筛选：对细胞的上清培养液进行检测，确定是否是需要的抗体。

杂交瘤细胞的克隆化：将确定的阳性细胞进行扩大培养，进一步筛选。

杂交瘤细胞系的保存：冻存于液氮中保存。

二、多克隆抗体

在早期传统的抗体制备方法是将一种天然抗原经各种途径免疫动物，由于抗原性物质具有多种抗原决定簇，故可刺激产生多种抗体形成细胞克隆，合成和分泌抗各种决定簇抗体分泌到血清或体液中，故在其血清中实际上是含多种抗体的混合物，称这种用体内免疫法所获得的免疫血清为多克隆抗体，也是第一代抗体。由于这种抗体是不均一的，无论是对抗体分子结构与功能的研究或是临床应用都受到很大限制，因此如何能获得均一性抗体成为关注的问题。

大多数抗原是由大分子蛋白质组成的，但只是抗原上有限部位的特殊分子结构能与其相应抗体结合，称此部位为抗原决定簇（Antigenic determinant）或表位（Epitope）。一种天然抗原性物质（如细菌或其分泌的外毒素以及各种组织成分等）往往具有多种不同的抗原决定簇，而每一决定簇都可刺激机体产生一种特异性抗体。

在机体淋巴组织内可存在千百种抗体形成细胞（即 B 细胞），每种抗体形成细胞只识别其相应的抗原决定簇，当受抗原刺激后可增殖分化为一种细胞群，这种由单一细胞增殖形成的细胞群体可称之为细胞克隆（Clone）。同一克隆的细胞可合成和分泌在理化性质、分子结构、遗传标记以及生物学特性等方面都是完全相同的均一性抗体，亦可称之为单克隆抗体。

三、基因工程抗体

基因工程抗体兴起于 20 世纪 80 年代早期。这一技术是将对 Ig 基因结构与功能的了解与 DNA 重组技术相结合，根据研究者的意图在基因水平对 Ig 分子进行切割、拼接或修饰，甚至是人工全合后导入受体细胞表达，产生新型抗体，也称为第三代抗体。

自 1975 年单克隆抗体杂交瘤技术问世以来，单克隆体在医学中被广泛地应用于痢疾的诊断及治疗。但目前绝大数单克隆抗体是鼠源的，临床重复给药时体内产生抗鼠抗体，使临床疗效减弱或消失。因此，临床应用理想的单克隆抗体应是人源的，但人—人杂交瘤技术目前尚未突破，即使研制成

功，也还存在人—人杂交瘤体外传代不稳定，抗体亲合力低及产量不高等问题。目前较好的解决办未能是研制基因工程抗体，（Genetically engineering antibody）以代替鼠源单克隆抗体用于临床。

基因工程抗体包括嵌合抗体、重构抗体、单链抗体、单区抗体及抗体库等。其中以嵌合抗体研究的较多，也较成熟。单链抗体及单区抗体虽具有结构简单、分子小等优点但其临床应用的前景尚待证实。

第四章 补体系统

补体是存在于正常动物和人血清中的一组不耐热具有酶活性的球蛋白，具有独特的理化性质，激活后具有细胞溶解、细胞黏附、调理、免疫调节、介导炎症反应、中和病毒、免疫复合物溶解和清除等重要的生物学效应。补体系统由参与补体激活和调控的各种成分及补体受体组成。补体的激活是复杂的级联反应，有经典与替代两种途径，最终形成攻膜复合体，对靶细胞溶解和破坏。补体的激活受到一系列调控蛋白的调节。

19 世纪末人们发现了免疫学中的溶菌与溶血现象，并将具有这一作用的物质命名为防御素（Alexin）。1899 年 Ehrlich 首先将其命名为“补体”（Complement）。Bordet 继又证实，各种动物红细胞抗体加补体可引起免疫溶血现象，建立了羊红细胞的免疫溶血系统和体外补体结合试验（Complement fixation test，CFT），为补体功能的研究提供了很好的实验模型。在 20 世纪 60 年代，由于蛋白质化学与免疫化学研究技术的进步，发现补体系统是由多种成分构成并分离纯化到各种补体成分，相继阐明了补体激活途径的机制。进入 80 年代，随着 Frey 等（1982）对 C3cDNA 克隆，相继多种补体成分的基因被克隆和测序。使人们在分子水平上对补体蛋白结构、补体基因克隆、补体分段的形成及各种复合体的组装、补体受体、补体的调控、补体的遗传多态性现象等方面的研究及认识都在不断取得新进展，形成了一门新的学科，即补体学（Complementology）。动物体内的许多生理过程需要进行有效地调节，一旦失去控制就会导致机体严重的损伤和机能紊乱。补体系统是动物进化过程中形成的“级联”酶促反应，有着严格的调节机制，以维持机体正常的生理平衡，如果调节机能紊乱，补体的产物将导致机体细胞受到破坏或造成严重的组织损伤。

第一节 补体系统的概念、组成和性质

一、补体系统的概念

补体（Complement，C）是存在于正常动物和人血清中的一组不耐热具有酶活性的球蛋白。早在 19 世纪末 Bordet 发现新鲜血清中含有能引起细菌

溶解的、对热不稳定的成分，称为补体。参与补体激活的各种成分以及调控补体成分的各种灭活或抑制因子及补体受体，称为补体系统（Complement system）。近年来，随着单一补体成分分离提纯的成功和各种补体成分的 cDNA 克隆成功，人们对补体成分的结构与功能、活化机制与遗传特性的认识进一步丰富。补体系统含量相对稳定，与抗原刺激无关，不随机体的免疫应答而增加，但在某些病理情况下可引起改变。补体系统激活过程中，可产生多种具有生物活性的物质，引起一系列重要的生物学效应，参与机体的防御功能和维持机体与自身稳定，同时也作为一种介质，引起炎症反应，导致组织损伤。此外，补体系统还与凝血系统、纤维蛋白溶解系统等存在互相促进与制约的关系。

二、补体系统的组成与命名

按补体系统各成分的功能，将其分为 4 组，即参与经典途径的组分、参与替代途径的组分、攻膜复合体组分及调节因子组分。该系统有 40 多种成分，均属糖蛋白。根据世界卫生组织（WHO）命名委员会对补体各成分的命名原则，补体成分以符号“C”表示，参与补体激活经典途径的固有成分按其被发现的先后顺序分别命名为 C1，C2，C3，…，C9，其中 C1 又由“Clq，Clr，C1s”3 个亚单位组成。参与替代途径的其他组分及调节因子的某些成分，以英文的大写字母或英文名的缩写符号表示，如 B，D，P，H 及 I 因子、C4 结合蛋白、促衰变因子、补体受体（Complement receptor，CR）等。当补体成分被激活时，则在数字或代号上方加一横线，如 C1，C3 bBb 等。灭活的补体片段在其符号前加英文字母 i 表示，如 iC3b。补体活化后的裂解片段以该成分加英语小写字母表示，如 C3a，C3b 等，通常 a 为小片段，b 为大片段。

三、补体成分的理化性质

补体各成分有不同的肽链结构，相对分子质量变动范围较大，最低的分子质量仅为 25 ku（D 因子），高的可达 400 ku（Clq）。各成分在血清中的含量也有差异，在 1 ~2 Pg/mL（D 因子）和 1 200 pg/mL（C3）之间不等。某些补体成分对热不稳定，经 56 ℃、30 min 即可灭活，在室温下很快失活，在 0 ~10 ℃ 中活性仅能保持 34 d。然而在 20 ℃ 以下可保存较长时间。许多理化因素，如紫外线、机械振荡、酸碱等都能破坏补体。补体成分在动物体内的含量稳定，不受免疫的影响，补体以豚鼠血清中的含量最丰富，因而在实验中常以豚鼠血清作为补体应用。补体可与任何抗原—抗体复合物结合而

发生反应，其作用没有特异性，这一特性在实验中得到广泛的应用。

第二节 补体系统的激活途径

补体系统的激活是指补体各成分在受到激活物质的作用后，在转化酶（Convertase）的作用下从无活性酶原转化为具有酶活性状态的过程。通常情况下，补体多以非活性状态的酶原形式存在于血清和体液中，经激活后，补体成分按一定顺序发生连锁的酶促反应，并在激活过程中不断组成具有不同酶活性的新的中间复合物，将相应的补体成分裂解为大小不等的片段，呈现不同的生物学活性，直至靶细胞溶解。补体的激活途径主要有从 C1 开始激活的经典途径（Classical pathway）和从 C3 开始激活的替代途径（Alternative pathway）。

一、补体激活的经典途径

补体激活的经典途径（Classical pathway），又称 C1 激活途径。它是抗体介导免疫反应的主要效应机制。免疫复合物依次活化 Clq，Clr，C1s，C4，C2，C3，形成 C3 与 C5 转化酶，这一激活途径是补体系统中最早发现的级联反应，因而称之为经典途径，又称为第一途径。整个激活过程可分为三个阶段，即识别阶段、活化阶段和攻膜阶段。它的活化主要通过经典途径第一成分 C1 结合到抗原—抗体复合物的 Fc 片段而引起。

（一）识别阶段

抗体与抗原结合后，绞链区发生构型变化，暴露出 Fc 片段上的补体结合部位，补体 C1 与该部位结合并被激活，这一过程称为补体激活的启动或识别。Cl 是一个大的、多聚体分子复合物，大约 750 ku，由一个 Clq 分子，在有 Ca2 + 存在下，与两个 Clr 和 C1s 分子结合而成。Clq 实际上是与 Ig 分子结合的亚单位，而 Clr 和 C1s 是蛋白酶解级联反应需要的丝氨酸酯酶原。Clq 是 400 ku 蛋白复合物，由 3 种不同的多肽链组成，它们结合形成杆状异三聚体结构，在氨基末端有胶原状的 3 股螺旋，而羧基末端呈球形结构。6 个同样的杆状结构（共有 18 条分开的多肽）结合形成一个一端为 3 股螺旋组成的中心索，而另一端为放射状球体的对称性分子复合体即 Clq 分子。Clr 和 C1s 均为单链 85ku 蛋白，在钙离子存在条件下，两者结合组成一个顺序为 ClsClrClrC1s 的具有弹性的线状四聚体。Clq 的两个或多个球状与 IgM 或 IgG 分子结合引起相关的 Clr 活化，两个活化的 Clr 分子互相裂解产生一个 57ku 链和一个 28 ku 链，该 28 ku 链即 C 石，是一种具有丝氨酸酯酶活性

的分子。活化的C1r裂解C1s分子，同样形成57 ku链和28 ku链。同样，较小片段C1s具有丝氨酸蛋白酶活性。C1s进一步作用于C4和C2，虽然如此，但C1的激活需满足以下条件：①C1结合到IgM的CH3区或IgG某些亚类（1gGl，IgG2，IgG3）的CH2区时才发生C1活化。②单个C1分子必须同时与两个以上IgG的FC段结合才能活化，因此IgG需要两个分子凝集后才能与Clq结合。IgM一分子即可与Clq结合启动经典途径。⑧仅抗原—抗体复合物可激活补体，游离或可溶性抗体不能激活补体，只有抗体与细胞膜上的抗原结合后，重链（H链）构象改变，补体结合点暴露才触发补体激活过程。

（二）活化阶段

活化的Cls依次酶解C4，C2形成C3转化酶。C3转化酶进一步酶解C3形成C5转化酶，即完成活化阶段（见图4－1）。C3转化酶的形成C4是分子质量为210ku的可溶性血清蛋白，由称为α、β和γ3条多肽链组成。α链位于半胱氨酸残基和附近的谷氨酸残基之间含有内部硫酯键。这个特征同

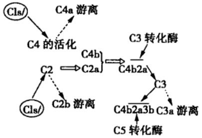


图4－1　经典激活途径的活化过程

样存在于C3分子。C1s裂解C4的α链，产生一个8.6 ku片段称C4a和一个大的残留分子称C4b。一个C1s分子能产生多个C4b分子。大多数C4b硫酯键很快与水分子反应，产生寿命短非活性中间物iC4b，一些C4b分子的硫酯键经过转酯作用分别与细胞表面的蛋白或糖形成共价酰胺或酯键，使C4b个子共价黏附于附近的细胞表面，从而保证补体活化稳定而有效地发于抗体结合的细胞表面。C2（100 ku单链多肽）在有镁离子存在时，能结合到c4b分的细胞表面，一旦C2与C4b结合，C2即被附近的C1s分子裂解产生一个35 ku的离开细胞表面的C2b分子和一个75 ku的可与C4b结合的C2a片段。C4b与C2a结合形成C4b2a复合物，即经典途径中的C3转化酶，具有结合并裂解C3的能力。而小分子的C2b游离于液相。C5转化酶的形成C3是分子质量为195 ku，由α和β两条多肽链通过二硫键连接的异二聚

体糖蛋白。C3 的血清数量为 0.55 ~ 1.2 mg/mL，高于所有其他补体成分。C3 含有与 C4 分子相同的内部硫酯键。C3 转化酶从 C3 分子 α 链上切去一个 9 kuC3a 片段，残留的分子是亚稳定的 C3b。与 C4b 一样，大部分亚稳定的 C3b 与水分子反应，变为 iC3c 和 iC3cd，不再参与补体级联反应。约 1.0% 的 C3b 分子通过共价键与细胞表面或与连接有 C 而石的免疫球蛋白形成结合，形成新的复合物 C4b2a3b，这一新的复合物即为经典途径的 C5 转化酶。C3a 是一种炎性因子，有过敏毒素和趋化作用。此外，少数 C3b 分子可黏附于有 C3 受体的细胞膜表面，引起免疫黏附反应。

（三）攻膜阶段

攻膜阶段又称为终末补体途径（Erminal complement pathway），是 C5 分解为 C5a 和 C5b，C5b 大分子片段与 C6、C7 结合形成 C5b67 复合物，然后与 C8 和 C9 结合形成跨膜穿通管道，将细胞溶破（详见终末补体途径部分）。

二、补体激活的替代途径

补体激活的替代途径（Alternate pathway）又称为 C3 激活途径，C3 旁路或 C3 支路。该途径是在抗体缺乏的情况下，补体系统不经 C1，C4，C2 途径而被激活的过程。参与替代途径的成分有 C3、B 因子、D 因子和备解素（Properdin，P）。C3 在替代途径的开始和后续过程中起着关键作用，因为这条途径是通过两种改变的 C3 形式中的一种而触发的。第一种是经常由经典途径产生 C3b；第二种是在循环的 C3 内部硫酯键进行缓慢自发性水解时产生的 C3（H_2O）。C3b 或 C3（H_2O）与 B 因子结合（B 因子是一种单链 94 ku 蛋白，类似于经典途径的 C2）形成复合物，复合物中的 B 因子易被另一个替代途径蛋白 D 因子蛋白酶解（D 因子是一个 25 ku 丝氨酸蛋白酶），释放出一个 33 ku 片段（Ba）并留下一个 63 ku 的大片段 Bb。Bb 与 C3b 或 C3（H_2O）形成的复合物 C3bBb 或 C3（H_2O）Bb 是替代途径的 C3 转化酶，Bb 作为丝氨酸蛋白酶能够裂解 C3。如果替代途径 C3 转化酶是由 C3（HzO）形成的，可存在于液相中；如果由 C3b 形成的则为颗粒状。但 C3bBb 复合物不稳定，很快衰变，但当其与分子质量为 220 ku 的备解素结合后，形成的 P. C3bBb 才非常稳定。然而，在正常血清中存在两种抑制因子，分别称为 H 因子和 I 因子，前者可将 P. C3bBb 复合物裂解为 C3b 与 BbP，然后 I 因子将 C3b 灭活，因此在正常情况下，替代途径的 C3 转化酶形成后即被破坏，但当有 H 因子的抑制物时，如细菌、真菌的细胞壁、蠕虫的角质、某些肿瘤细胞膜和聚集的免疫球蛋白表面等，H 因子受到抑制，

P. C3bBb 即能保持稳定不被裂解，并可作用于 C3 产生 C3a 和 C3b。C3bBb 与 C3b 结合产生 C3bBb C3b（C5 转化酶）。C5 转化酶即可发挥作用，进入攻膜阶段。该激活途径在有激活作用表面存在时，可迅速产生 C3b，进而产生 C5 转化酶。因此，在外来物质（如细菌、真菌或蠕虫）侵入时，机体可在没有抗体存在的情况下，通过补体替代途径激活补体系统，发挥生物学效应。

替代途径的正常功能依赖其成分的活化和调节，其活化具有两个重要特征：

（1）开始于 C3 内部硫酯键的自发性水解，在 C3 转化酶的作用下使 C3b 持续产生，这一过程称为 C3 逐渐停滞（C3tickover）。通过 C3 逐渐停滞机制产生的 C3b 常在很短时间内被水解形成无活性形式，使补体在液相中不能活化，仅很少 C3b 分子能以随机的方式与细胞表面形成共价结合，这是替代途径识别自我和非我的阶段。此时，如果 C3b 分子滞留于自身细胞表面，它很快被调节蛋白所灭活，从而停止级联反应；相反，结合于许多微生物表面的 C3b 可促进其与 B 因子结合，形成稳定的酶活性分子即替代途径 C3 转化酶或 C3 bBb 。

（2）就补体系统而言，替代途径的活化是补体系统作用的进一步放大。稳定的 C3 bBb 复合物可产生许多 C3b 分子；反过来，结合于同一细胞表面的 C3b 可形成更多的 C3 转化酶。因此，C3b 既是 C3 转化酶的成分之一，又是 C3 转化酶作用形成的一个产物。这种状态就是替代途径的正反馈放大作用。事实上，由于从经典途径产生的 C3b 能触发替代途径，替代途径 C3 转化酶同样是经典途径补体活化启动的一个放大机制。通过替代途径 C3 转化酶产生的某些 C3b 分子沉积于邻近的表面并与 C3 转化酶结合形成新的复合物 C3 bBb 3b，这就是替代途径的 C5 转化酶，相当于经典途径的 C5 转化酶 C4b2a3b，其功能为裂解 C5。从这一步以后，经典途径和替代途径会聚为相同的终末补体途径。

三、终末补体途径

经典途径或替代途径产生的 C5 转化酶是补体系统终末成分活化的起始，并最终形成杀细胞的攻膜复合体。这个过程开始于 C5 转化酶裂解 C5，这是补体级联反应的最后酶促反应，后续步骤涉及的是完整的蛋白结合及聚合反应形成。

（一）C5 的活化

C5 是一个 190 ku 经二硫键连接的异二聚体，类同于 C3C4，但没有内部

硫酯键。C5与经典途径或替代途径的C5转化酶的C3b分子结合，然后C5被裂解为C5a和C5b。C5a为小片段，分子质量为11ku，游离于液相；C5b为双链、分子质量为180 ku的大片段，结合于细胞表面。

（二）攻膜复合体的形成

C5活化产生的C5b与C6结合（C6为128 ku的单链蛋白）形成C5b6复合物。稳定的C5b6复合物可松散地结合在细胞表面直至结合C7（C7为121 ku的单链蛋白），一个C7分子与一个C5b6复合物结合，形成C5b67复合体，该复合体具有高度亲脂性，它能插入细胞膜脂质双层的疏水端构成一个C8分子高亲和性的内在膜受体。C8蛋白是由3条不同的链组成的155 ku的三聚体，64 ku的。链借二硫键与22ku的γ链连接，并以非共价键与64 ku的β链连接。γ链插入细胞膜的脂质双层与C5b67复合物连接形成复合体C5b678，复合体C5b678稳定地吸附于细胞表面，C5b678复合物对所吸附的细胞具有有限溶解力。补体系统的完全溶解活性是在C9，即补体级联反应的最后一个成分与C58复合物结合后出现。C9是一个79ku的单体血清蛋白，多个C9聚合于C58部位形成攻膜复合物（membrane attack complex，MAC）。

最近的证据提示MAC是由12～15个C9分子和1个C58复合体结合组成的，呈一种管状结构。用特殊电镜观察，“多聚C9”在细胞膜上形成孔道，此孔道内径约11 nm，一个11．5 nm大小的柄包埋于脂质双层中，在细胞膜表面有约10 nm长的突起，从剖面图看似炸面圈形，此类结构类似于通过微孔形成蛋白（如穿孔素）而产生膜微孔。通过MAC形成的微孔允许可溶性小分子物质、离子和水进行被动交换，但由于微孔太小以致于不允许大分子，如蛋白从胞浆逸出，其结果是水和离子进入细胞引起渗透性溶解，最终造成细胞溶解和破坏。在没有多聚C9聚合及微孔形成时，也可以发生某种程度的溶解，这可能是由于C59复合体疏水部分插入细胞引起脂质重排，使该区域发生渗漏的结果。换句话说，末端补体成分插入细胞膜可引起细胞非依赖性渗透溶解而死亡，这是由于致死量的钙被动扩散进入细胞而引起的。

第三节 补体激活的调节

经典和替代途径的补体级联反应受到若干液相和膜蛋白的严格调控。补体级联反应活化和抑制达到一个精确的平衡，它既可以防止自身组织和细胞损伤又可有效杀伤外来的微生物。补体系统的主要调节成分包括在级联反应

中不同位置起作用的单个调节蛋白。

一、经典途径的调节

经典途径的活化主要在两个阶段受到调节。

（一）C1抑制剂对C1蛋白酶解活性的调节

C1抑制剂（C1 inhibitor，C1INH）是一种104 ku的高度糖基化的血清蛋白，它是丝氨酸蛋白酶抑制剂（Serpin）蛋白超家族成员，包括几种丝氨酸蛋白酶抑制剂，如α1抗胰蛋白酶、抗凝血酶Ⅱ和α1抗糜蛋白酶。C1INH通过与活性形式的Clr或C1s结合，形成稳定的复合物来调节经典补体级联反应；复合物的形成阻断了这两种丝氨酸蛋白酶裂解正常底物的活性。与其他丝氨酸蛋白酶抑制剂一样，C1INH发挥作用是通过表达一段“诱导”序列，以模仿C1s和Clr的正常底物。C1INH被C1s或Clr蛋白裂解暴露出一个活性部位与蛋白酶形成一个共价酯键。C1INH是一已知的Clr和Cls抑制剂。C1INH亦可防止C1的自发性活化，C1自发性活化发生于缺乏抗体的情况。血液中大多数C1是与C1INH连接，这样可以防止C1结构改变而引起的自发性活化。C1与抗原—抗体复合物的结合可以明显地使C1从C1INH抑制作用下释放出来。

（二）几种蛋白对C3转化酶形成的抑制

C4b结合蛋白（C4bindingprotein，C4bBP）是一种550 ku可溶性血清糖蛋白，而补体受体1型（CRl）是一种完整膜蛋白。这两种蛋白的结构不同，但以两种相同的方式调节经典途径：第一，它们与C4b结合而竞争性抑制与C2b的结合，从而防止经典途径C3转化酶C4b2a的装配并加速其解离；第二，C4bBP和CRl作为协同因子，通过称为I因子的蛋白促进C4b裂解（1因子是一个90ku、由二硫键连接的异二聚体血清蛋白，具有丝氨酸酯酶活性，它能使C4b裂解产生两个片段：一个为C4c的片段释放进入液相；一个为较小C4d的片段，仍然结合在原来的细胞表面，C4d不具有C3转化酶活性）。除了C4bBP和CRl外，另一个称为膜辅助蛋白（membrane cofactor protein，MCP）也可作为I因子的协同因子介导C4b裂解。MCP是一个45～70 ku、表达于白细胞、淋巴细胞、上皮细胞和纤维母细胞上的完整膜糖蛋白。不像C4bBP和CRl，MCP不能促进C4b2a解离。经典途径C3转化酶的形成也受衰变加速因子（decay acceleratingfactor，DAF）的抑制。DAF是一个70 ku、存在于外周Ⅲ细胞、内皮细胞及各种黏膜上皮细胞上的磷酯酰肌醇结合的或跨膜的糖蛋白。同C4bp和CRl一样，DAF能与C2竞争与C4b结合，从而抑制经典途径C3转化酶形成并促进形成的C3转化酶

解离。与 C4bp，CRl 和 MCP 不同的是：DAF 不能作为 I 因子的协同因子介导 C4b 裂解。

二、替代途径的调节

替代途径也在多个步骤受到若干循环和膜蛋白的调节，其中有些同样也作为经典途径的调节因子。

（一）几种蛋白的抑制作用

有几种蛋白可抑制替代途径 C3 转化酶成分的缔合并加速其解离，其中一个就是可溶性的 150 ku 称为 H 因子的单链血清蛋白。H 因子与 B 因子和 Bb 竞争性与 C3b 结合。另外，两个膜蛋白 CRl 和 DAF 与 C3 结合并竞争性抑制 B 因子与 C3b 结合，因而阻止了替代途径 C3 转化酶的装配。CRl 和 DAF 也能使 Bb 从已形成的 C3 转化酶上解离。CRl 和 DAF 在替代途径中的调节活性与在经典途径中所起阻断作用相似。

（二）I 因子的抑制作用

替代途径 C3 转化酶 C3 bBb 的形成受 I 因子的抑制。I 因子能裂解 C3b。I 因子裂解 C3b 作用至少受 3 个不同的合作因子，包括 H 因子、CRl 和 MCP 的促进。I 因子首先裂解 C3b，释放出一个 3 ku 片段，留下一个无活性的 C3b（iC3b）黏附在活化细胞表面，iC3b 不能参与 C3 转化酶的形成。iC3b 进一步被 I 因子裂解，产生一个仍结合于活化细胞表面的 41 ku 片段（即 C3dg）和一个可溶性 C3c 片段。C3dg 易受纤维蛋白溶酶和胰蛋白酶酶解，产生一个 33ku 的表面结合分子 C3d 和一个可溶性 8 ku 片段 C3g。除了作为协同因子直接作用外，MCP 和 CR 也可增加 C3b 与 B 因子有关的 H 因子的亲和力，进一步减少 C3 bBb 复合物的形成。不同的细胞表达不同量的调节蛋白 MCP 和 CRl，从而控制 C3b 和替代途径 C3 转化酶形成的部位。特别值得一提的是：C3 逐渐停滞机制能持续地产生 C3b，这样便形成越来越多的替代途径 C3 转化酶。大多数正常细胞表达高水平的 MCP 和/或 CRl，可保护这些细胞免受补体损伤；相反，许多外来颗粒和感染性微生物缺乏 MCP 和 CRl，以致于 C3b 停留于这些表面而不能被灭活，与 B 因子结合，从而促进 C3 bBb 复合物的形成，导致在这些外来物表面补体活化。

三、攻膜复合体形成的调节

经典途径或替代途径 C3 转化酶形成后，过量补体介导的细胞溶解作用可通过作用于 MAC 而受到抑制。

（一）HRF和CD59的抑制作用

MAC的形成受同源限制因子（Homologous restrictionfacor，HRF）和CD59两种膜蛋白的抑制。两种蛋白均表达为磷酯酰肌醇连接形式或跨膜形式。HRF（也称为C8结合蛋白）是一个分子质量为65 ku存在于多种细胞上的蛋白，可干扰C9与C8的结合。CD59又称为反应性溶解膜抑制剂（Membfane in hibitor of reactivelysis，MIRL），是一个18～20 ku的糖蛋白，可能通过阻断C7和C8与C5b6的结合而抑制MAC形成。HRF和CD59均显示出同种限制性，例如它们有效地抑制MAC介导的溶解反应，仅仅发生于相同种属的、表达HRF和CD59细胞的末端补体成分。当补体被邻近的免疫复合物或细菌活化，HRF和CD59可能是保护正常旁观细胞（Normalbystander cell）免受溶解的重要因子。

（二）S蛋白的抑制作用

终末补体成分插入脂质膜受到S蛋白的抑制。S蛋白是一种83 ku、与海带氨酸（Laminine）和纤维连结素（Hbronectin）有关的血清蛋白，它的作用是与C5b67复合物结合而防止复合物插人脂质膜。以这种方式，S蛋白通过插入可溶性C5b67复合体从其他活性细胞表面释放，而减少自体细胞表面潜在的损伤。

（三）SP40，40的调节作用

MAC溶解细胞的能力被称为SP40，40循环蛋白调节。SP40，40是一种能够从可溶性C5－9复合物中分离得到的异源二聚体，可能是MAC中的一种正常补体成分，其主要作用是控制MAC溶解细胞的能力，SP40，40的作用机理尚不清楚。

第四节　补体激活后的生物学效应

一、细胞溶解

补体活化后形成的攻膜复合体（MAC）可以溶解一些微生物、病毒、红细胞和有核细胞，这种作用称为细胞溶解（Celllysis）。因为，补体激活的旁路途径一般是在没有抗原—抗体反应的情况下发生，因此旁路途径在动物机体抵抗微生物感染的非特异性防御中起着十分重要的作用。通过抗原抗体反应启动补体激活的经典途径可以极大地补充旁路途径的非特异性先天性防御能力，从而产生特异性的防御机制。抗体和补体在机体抵御病毒感染中作用很大，特别是在急性感染阻止病毒扩散和保护机体遭受再感染起着关键的

作用。大多数或者几乎所有的囊膜病毒都对补体介导的溶解十分敏感。病毒的囊膜大部分来自感染细胞的胞浆膜，因而易受到 MAC 的作用引起孔道形成。易受到补体介导的溶解作用的病毒主要来自于疱疹病毒科、正粘病毒科、副粘病毒科和反转录病毒科。一般而言，补体系统溶解革兰氏阴性菌是十分有效的。但有些革兰氏阴性菌和大多数革兰氏阳性菌具有抵抗补体介导损伤的机制。单个 MAC 即可溶解红细胞。与红细胞相比，有核细胞可抵抗补体介导的溶解，因此有核细胞溶解需要多个 MAC 的形成。

二、细胞黏附

许多细胞都具有补体成分受体，这些受体称为 CRl，CR2 等。CRl 是其中最重要的受体。嗜中性粒细胞、巨噬细胞、血小板（非灵长类动物）及 B 细胞都有 CRl，该受体结合 C3b 的能力强，结合 C4b 的能力弱。覆盖有 C3b 的颗粒结合到上述细胞的过程称为免疫黏附。B 细胞与嗜中性粒细胞具有 CR2 受体，该受体与 C3 裂解产物结合。单核细胞、B 细胞、嗜中性粒细胞和某些无标志细胞都具有 Clq 受体。而 B 细胞还有 H 因子受体。细胞黏附（Cell adherence）在抗感染免疫和免疫病理过程中具有重要作用。

三、调理作用

C3b 是补体系统中的主要调理素，C4b 和 C3bi 也有调理活性，可起调理作用（Opsonization）。吞噬细胞可表达补体受体（CRl，CR3，CR4），可与 C3b，C4b 或 C3bi 结合，在补体活化过程中，如果抗原被 C3b 覆盖，具有 CRl 受体的细胞即可与之结合，如果是吞噬细胞（如嗜中性细胞、单核细胞和巨噬细胞），则吞噬作用就被加强。

四、免疫调节

B 细胞具有 CRl 受体，而 T 细胞却没有此受体。补体缺失会使抗体应答延迟，抑制抗体的产生，严重影响生发中心的发育和免疫记忆功能，由此推测 CRl 受体可能与免疫应答的调节有关，能起免疫调节（Immuneregulation）作用。譬如 C3a 具有免疫抑制作用，抑制 TH 与 Tc 细胞的活性，然而 C5a 可刺激 ILl 的分泌。因此，补体对 T，B 淋巴细胞的增殖有促进作用，而且也能提高 Tc 细胞的活性。

五、炎症反应

补体系统在炎症反应（Inflammatory response）中的主要作用是吸引自细

胞到补体激活位点。嗜中性粒细胞与巨噬细胞在吞噬颗粒物质时释放的蛋白水解酶能激活补体 C1 或 C3，从而显著增强炎症发展过程。过敏毒素 C3a，C4a 与 C5a 能与肥大细胞和血液中的嗜碱性细胞结合，诱导脱颗粒，释放组织胺和其他活性介质，以加强炎症反应。C3b 引起的血小板聚集可提供炎症介质，C3a，C5a 和 C5667 可共同作用，诱导单核细胞和嗜中性细胞黏附到血管内皮细胞，并向补体激活部位的组织迁移，从而促进炎症反应。

六、病毒中和

补体系统对病毒的感染性具有中和作用。一些病毒如反转录病毒、新城疫病毒等在没有抗体存在时，可活化补体旁路或经典途径。补体系统介导的病毒中和（Viralneutralization）作用有不同的机制。有的可通过使病毒形成大的凝聚物，而降低病毒的感染性。在少量抗体存在下，C3b 可促进病毒凝聚物的形成。抗体和/或补体结合到病毒表面，可形成一层很薄的“外衣”，从而阻断病毒对细胞的吸附过程，从而中和病毒的感染性。抗体和补体在病毒颗粒表面沉积可促进病毒与具有 Fc 受体或 CRl 的细胞结合，如果结合的为吞噬细胞，则可引起吞噬作用和细胞内破坏。此外，前已述及，补体可介导大多数囊膜病毒的溶解，导致病毒囊膜的裂解和与核衣壳蛋白的解离。

七、免疫复合物的溶解

抗原抗体在体内结合形成免疫复合物（Immunecomplex，IC），一方面沉积于组织中激活补体，通过 C3a，C5a，C5667 的作用，可造成组织损伤；另一方面在 IC 形成的初期，C3b 与 C4b 共价结合到 IC 上，可妨碍 IC 与 IC 相互作用形成网络，因而可阻止 IC 沉积。当 IC 形成后，补体也可促进其溶解，也可通过免疫黏附作用，促进 IC 清除，防止免疫复合物疾病的发生。被 C3b 覆盖的可溶性免疫复合物可促进其与红细胞上的 CRl 结合，然后被红细胞运送到肝脏和脾脏，在这些器官中，免疫复合物受到吞噬，因而可防止免疫复合物在组织中的沉积。此外，补体还可介导细胞凝聚（Cell clumping）。补体系统也与凝血系统密切相关，譬如被补体溶解的细胞可通过 Hageman 因子激活凝血级联反应，C3b 可引起血小板的聚集，直接促使血栓的形成，因此血流中细胞的溶解与免疫复合的形成都可引起血管内凝结。在急性移植排斥病例中，常常观察到补体引起移植物血管内皮的破坏，进而引起血管内血栓的形成和移植物破坏。在新生牛犊溶血性疾病中，补体介导破坏大量的红细胞，以致引起广泛性的血管内凝结和死亡。

第五节 补体受体、补体系统的遗传调控及合成与代谢

一、补体受体

许多细胞都具有补体成分的受体。补体系统激活后，活性片段通过与细胞表面的特异性受体结合发挥作用。

二、补体的遗传调控

（一）补体蛋白的基因家族

编码补体蛋白的基因根据其序列同源性可分为不同基因家族成员，相同基因家族成员常常具有相同的功能特征。编码不同补体蛋白基因的同源性提示，每一基因家族成员可通过祖先基因的复制而增多，从而导致结构多样性，这种多样性可使不同的蛋白执行特殊的功能。了解最为清楚的补体基因家族，主要是与 C3b 和 C4b 结合的一组蛋白，如 C4bBP，H 因子，CRl，CR2，DAF，MCP，C2 和 B 因子，这组蛋白家族常见的结构特征是含有由 60 个氨基酸残基组成的重复氨基酸序列或基序，称为 SCR（Short consensus repeats），例如 H 因子的氨基酸序列是由完整的 20 个 SCR 组成，CRl 的细胞外区域由 34 个 SCR 构成。这些分子的 C3b/C4b 结合区域至少有部分是由 SCR 组成。

（二）补体基因的染色体连锁

补体 C2，C4 及 B 因子都是由 MHC 的Ⅲ类基因编码控制的，调控补体的蛋白（如 H 因子、C4 结合蛋白、DAF）基因与补体的主要细胞膜受体（如 CRl，CR2）基因相连锁，其基因紧密连锁在 1 号染色体长臂的一个 950kbDNA 片段上，位于 MHC 的外侧，该基因群被命名为补体活性调节群（Regulators of complement activation，RCA）基因簇。编码 C3 的基因与 MHC 在同一染色体上，但不是 MHC 的组成部分。编码 MAC 成分的 C6，C7，C8 和 C9 基因位于 1 号染色体的另一个区域。

三、补体蛋白的生物合成与代谢

补体蛋白的合成具有广泛性的特点，体内很多组织细胞均可合成补体成分，譬如肝细胞、巨噬细胞、肾小球细胞、肠道上皮细胞、骨髓细胞等。其中，肝细胞和单核吞噬细胞（巨噬细胞）能合成存在于血清中的大多数补体蛋白，是补体的主要产生细胞。炎症病灶中的补体成分主要是由巨噬细胞

合成的。不同类型的上皮细胞可合成 C1 蛋白。补体在合成时，其基因表达具有组织特异性，即不同细胞各自调节其补体的生物合成，例如 C3 缺乏症患者肝细胞中产生 C3 明显减少，但巨噬细胞产生的 C3 明显增多，超出正常水平。另外，补体的合成受多种因素的调节，如在应激反应中产生的细胞因子 IL1，IL6，肿瘤坏死因子，干扰素 γ 等均可调节补体成分的合成。已有研究表明干扰素 γ 可诱导巨噬细胞合成大量补体激活替代途径中的蛋白。与其他血浆蛋白比较而言，补体代谢快，血浆中的补体大约每天更新一半，在疾病状态下，补体代谢变得比较复杂。

第五章 免疫系统

第一节 免疫系统概述

动物机体产生免疫应答的物质基础即为免疫系统（Immunesystem），免疫系统主要是由免疫器官和免疫细胞所组成，其中免疫器官包括有中枢免疫器官和外周免疫器官，免疫细胞则包括有免疫活性细胞T细胞和B细胞，另外，还有免疫辅助细胞等。T细胞和B细胞的抗原受体分别称为TCR和BCR，它们都是识别抗原的物质基础。免疫是动物机体的一种特异性生理反应，通过识别和排除抗原性异物，从而维持体内外环境的稳定。动物机体的免疫功能是在组织器官中，由各种淋巴细胞、单核细胞和其他免疫细胞及其产物，即抗体、细胞因子和补体等免疫分子的相互作用下完成的。由这些具有免疫作用的细胞及其相关组织和器官构成了机体的免疫系统（Immunesystem）。因此，免疫系统是动物机体执行免疫功能的组织机构，是产生免疫应答的物质基础。

淋巴细胞的表面抗原以CD统一编号命名，T细胞分为CD4’和CD8’两大亚群，按功能又可将CD4’CD8—T细胞分为TH、T等，将CD4—CD8’分为Ts和CTL。K细胞和NK细胞也属淋巴细胞。免疫辅助细胞主要有单核吞噬细胞、树突状细胞，是主要的抗原递呈细胞。活化的B细胞也是抗原递呈细胞。各种粒细胞有相应的功能。黏膜免疫系统和红细胞免疫系统有独特的免疫功能。

免疫系统包括免疫器官、免疫细胞及免疫分子3大类（见图5－1）。免疫器官可分为中枢免疫器官和外周免疫器官。它们在体内分布广泛，如外周淋巴器官分布于机体各个部位。免疫细胞主要是淋巴细胞、单核吞噬细胞和其他免疫细胞，它们不仅定居在淋巴器官中，也分布在黏膜和皮肤等组织中。免疫分子则由抗体、细胞因子和补体3部分组成。免疫细胞和免疫分子还可通过循环系统，即血液循环和淋巴循环分布于体内几乎所有部分，持续地进行免疫应答。各种免疫细胞和免疫分子既相互协作，又相互制约，使免疫应答既能有效发挥又能在适度范围内进行。除了以上这些淋巴器官、免疫细胞和分子组成的免疫系统外，还有一些组织细胞也具有免疫功能，它们的

作用比较单纯，以独特方式进行识别、结合和排除异物（如黏膜免疫系统和红细胞免疫系统）。

- 免疫系统
  - 免疫器官
    - 中枢免疫系统
      - 骨髓
      - 胸腺
      - 腔上囊
    - 外周免疫系统
      - 淋巴结
      - 脾脏
      - 扁桃体
      - 黏膜相关淋巴组织
      - 哈德氏腺
  - 免疫细胞
    - T、B 淋巴细胞
    - NK 细胞
    - K 细胞
    - 粒细胞
    - 肥大细胞
  - 免疫分子
    - 细胞因子
    - 补体
    - 抗体

图 5-1　免疫系统的组成示意图

第二节　免疫器官

机体执行免疫功能的组织结构称为免疫器官（Immuneorgan），免疫器官是由淋巴细胞和其他免疫细胞发生、分化成熟、定居和增殖以及产生免疫应答的场所。根据其功能的不同可分为中枢免疫器官和外周免疫器官。

一、中枢免疫器官

中枢免疫器官（Central immuneorgan），又称初级免疫器官（Primary immuneorgan），是淋巴细胞等免疫细胞发生、分化和成熟的场所，包括骨髓、胸腺、法氏囊。它们具有共同的特点：在胚胎发育的早期出现，是起源于内外胚层连接处，出生之后它们中有的，如胸腺和法氏囊可在青春期后就逐步退化为淋巴上皮组织，具有诱导淋巴细胞增殖分化为免疫活性细胞的功能，并是可以将其输送给外周免疫器官的场所。如果在新生期切除动物的这类器官，可造成淋巴细胞因不能正常发育、分化而缺乏具有功能的淋巴细胞，出现免疫缺陷，免疫功能低下甚至丧失。但中枢免疫器官本身及其中的

淋巴细胞的发育增殖不需要抗原刺激。

（一）骨 髓

骨髓（Bone marrow）是动物体最重要的造血器官，骨髓具有免疫和造血双重功能，它由网状结缔组织构成支架，网眼中充满多种细胞。骨髓是产生各种淋巴细胞的前体细胞、巨噬细胞及各种血细胞的场所，出生后所有血细胞均来源于骨髓。一切血细胞都来源于骨髓，骨髓中生成原始血淋巴先驱细胞，先经胚胎卵黄囊血岛、胎肝、脾内增殖后转移入骨髓内，同时骨髓也是各种免疫细胞发生和分化的场所。移来的细胞起初为骨髓多能干细胞，在骨髓内增殖分化为淋巴系干细胞和髓系干细胞两大类。淋巴系干细胞中，T淋巴系前体细胞进入胸腺，被驯化发育成为T淋巴细胞各亚群，B淋巴细胞系前体细胞，在哺乳动物骨髓内增殖发育为B细胞，是为骨髓衍生淋巴细胞；若在禽类则转入法氏囊增殖成为囊依赖性淋巴细胞。另一大类为髓系干细胞，其中前单核细胞发育为单核细胞、巨噬细胞；前骨髓细胞发育为各种粒细胞；红母细胞发育为幼红细胞及红细胞，这些细胞都参与机体的免疫应答。

骨髓中存在的多能干细胞可分化成髓样干细胞和淋巴干细胞，前者进一步分化成红细胞系、单核细胞系、粒细胞系和巨核细胞系等；后者则发育成各种淋巴细胞的前体细胞。淋巴干细胞中的一部分在骨髓中分化为T细胞的前体细胞，经血液循环进入胸腺，被诱导分化为成熟的淋巴细胞，这类细胞被称为胸腺依赖性淋巴细胞，简称T细胞，它们是参与细胞免疫的主要成分。还有一部分淋巴干细胞分化为B细胞的前体细胞。在鸟类，这些前体细胞经血液循环进入法氏囊，被诱导发育为成熟的囊依赖性淋巴细胞，简称B细胞。B细胞是参与体液免疫的主要成分。在哺乳动物体内，这些前体细胞则在骨髓内进一步分化发育为成熟的B细胞，因此骨髓也是参与体液免疫的重要部位。抗原再次刺激动物后，外周免疫器官对该抗原快速免疫应答，但产生抗体的时间持续短；而在骨髓内可缓慢、持久地产生抗体，所以它们是血清抗体的主要来源。

骨髓为重要的免疫器官，它是各种免疫细胞的发源地。人和哺乳动物机体中重要免疫细胞，除T细胞在发育过程中是从骨髓到胸腺进行驯化外，其余免疫细胞几乎都是在红骨髓中发生和发育的；骨髓被多数学者认为是法氏囊类同器官，人及哺乳动物的B细胞在此中发育。研究证明，骨髓中淋巴细胞占20%，其中绝大多数为B细胞，因之骨髓直接影响体液免疫应答和细胞免疫应答，当骨髓功能缺损时，可引起严重的混合型免疫缺陷病。骨髓产生抗体的免疫球蛋白类别主要是IgG，其次为IgA，由此可见，骨髓也

是再次免疫应答发生的主要场所。大剂量放射线辐射动物，可因杀伤骨髓干细胞而破坏其骨髓功能，其结果不仅因严重损害造血干细胞而导致造血功能和免疫功能丧失，临床上出现免疫缺陷症，并因频繁而持久地反复感染导致动物死亡。只有通过骨髓移植，才能重建造血功能，并且恢复免疫功能。

（二）胸 腺

哺乳动物的胸腺（Thymus）是由第3咽囊的内胚层分化而来的。成熟胸腺位于胸腔前部纵隔内，呈二叶。猪、马、牛、犬、鼠等动物的胸腺可伸展至颈部直达甲状腺，其中马以胸腔胸腺为主，牛的胸腺则主要存在于颈部两侧，鸟类的胸腺沿颈部在颈静脉一侧呈多叶排列。猪也属于颈胸腺型，主要存在于气管两侧，胸部胸腺则位于前纵膈中。胸腺的大小因年龄不同而异，就其与体重的相对大小而言，在初生时最大，而其绝对大小则在青春期最大。青春期之后，胸腺的实质萎缩，皮质为脂肪组织所取代，并且随年龄增长而逐渐退化。另外，动物常处于应激状态时，可加快胸腺的萎缩，由此可见久病死亡的动物，其胸腺一般都较小。

尽管胸腺在解剖学上是多样性的，但组织学上则基本相同。胸腺外包裹着由结缔组织构成的被膜，被膜向内伸入形成小梁将胸腺分隔成许多胸腺小叶，形成胸腺的基本结构单位。胸腺实质上是由胸腺细胞（Thymocyte）和胸腺基质细胞所组成。胸腺细胞属于T淋巴细胞，但大多数是未成熟的幼稚细胞；胸腺基质则包括胸腺上皮细胞、树突状细胞和巨噬细胞等。胸腺小叶的外周是皮质中心是髓质，皮质层又分为外皮质层和内皮质层。外皮质层中有较幼稚的前T细胞和一种特殊的胸腺上皮细胞，称为胸腺哺育细胞（Thymicnursecell，TNC）。内皮质层中的细胞以小的皮质胸腺细胞为主，也有胸腺上皮细胞和树突状细胞。髓质内有髓质胸腺细胞，它们可进一步发育为成熟的T细胞。在正常胸腺髓质内还可见到一种圆形或椭圆形的环状结构，称为胸腺小体或哈氏小体（Hassail's corpusle），由髓质上皮细胞、巨噬细胞和细胞碎片组成。

胸腺是T细胞分化成熟的免疫中枢器官。如果将新出生的动物的胸腺摘除，此动物在成年后外周血和淋巴器官中的淋巴细胞则显著减少，不能排斥异体移植皮肤，抗体生成反应也表现低下。但如果在动物出生后数周后再将其胸腺摘除，则不易发现明显的免疫功能受损，这是因为在新生期前后已有大量成熟的T细胞从胸腺输送到外周免疫器官，建立起了细胞的免疫机能。因此，切除成年动物胸腺的后果并不十分严重。

胸腺的免疫功能，主要有以下方面，首先是T细胞成熟的场所，骨髓中的前体T细胞经血液循环进入胸腺后，首先是进入到外皮质层，在浅皮

质层的上皮细胞即胸腺哺育细胞（TNC）诱导下进行增殖和分化，随后移出浅皮质层进入深皮质层继续增殖，通过与深皮质层的胸腺基质细胞接触后发生选择性分化过程，多于95%的胸腺细胞在此处死亡，少于5%的才能够继续分化发育，直至成为成熟的胸腺细胞，并向髓质迁移。进入髓质的胸腺细胞与髓质部的胸腺上皮细胞和树突细胞等接触后再进一步分化成熟，成为具有不同功能的T细胞亚群。最终成熟的T细胞从髓质经血液循环输至全身，参与细胞免疫。这类成熟的外周T细胞很少有返回胸腺的。其次是产生胸腺激素，胸腺还具有内分泌腺的功能。胸腺上皮细胞可产生多种小分子质量的肽类胸腺激素，如胸腺血清因子（Thymulin）、胸腺素（Thymosin）、胸腺生成素（Thymopocietin）和胸腺体液因子（Thymic humoral factor）等，它们对诱导T细胞成熟有重要的作用。胸腺素是一种小分子多肽混合物，胸腺素均来自动物骨髓的前体T细胞，成熟后成为具有某些T细胞特征的细胞。胸腺生成素能诱导前体T细胞的分化，降低其cAMP水平并增强T细胞的功能，因此可以促进T细胞的成熟。胸腺血清因子是胸腺上皮细胞分泌的肽类，它能部分地恢复胸腺被切除的动物的T细胞功能。此外，胸腺激素对外周成熟的T细胞也有一定作用，具有调节功能。

（三）法氏囊

法氏囊（Bursaoffabricius）又称腔上囊。法氏囊为禽类所特有的淋巴器官，位于泄殖腔背侧后上方，并有短管与之相连。法氏囊的形状似樱桃状，在鸡中为球形状囊，在鹅、鸭腔上囊呈椭圆形或圆筒状囊。法氏囊的囊壁内充满了淋巴组织，囊壁的结构自内向外为黏膜上皮、固有膜、肌层和外膜。

法氏囊的内层黏膜形成了数条纵褶，纵褶突入到囊腔内。法氏囊黏膜的固有层内有大量的淋巴小结，淋巴小结的排列非常紧密，淋巴小结可分为皮质部和髓质部两部分，再皮质和髓质之间具有一层未分化的上皮细胞。法氏囊的功能是可以诱导B细胞进行分化和成熟的场所，来自于骨髓的淋巴干细胞在法氏囊内被诱导分化为成熟的B细胞，然后再经过淋巴和血液循环而迁移到外周淋巴器官进而参与体液免疫。

而如果将胚胎后期或初孵出壳的雏禽的法氏囊切除，则其机体内体液免疫应答受到抑制，表现出浆细胞减少或消失的现象，因此在抗原刺激后不能产生特异性抗体。但是法氏囊对细胞免疫的影响比较小，被切除的雏禽仍能产生排斥皮肤移植的反应。而某些病毒感染或者某些化学药物均可导致法氏囊萎缩。如果在鸡群中，广泛感染了传染性法氏囊病病毒后，由于法氏囊受到了损伤导致其免疫功能被破坏，继而导致免疫接种的失败。法氏囊的另外一个功能就是可以作为外周淋巴器官捕捉抗原和合成某些抗体，在法氏囊管

开口处的背侧还含有小的T细胞灶，因此不能把法氏囊看做是单纯的一级淋巴器官。在哺乳动物中只有胸腺而没有法氏囊，B细胞在骨髓发育成熟，因此骨髓兼有法氏囊的功能。

二、外周免疫器官

外周免疫器官（Peripheral immune organ）又称为次级或二级免疫器官（Se-eondaryimmuneorgan）。外周免疫器官是成熟的T细胞和B细胞存在、增殖和对抗原刺激产生免疫应答的场所，主要是由脾脏、淋巴结和存在于消化道、呼吸道和泌尿生殖道的淋巴小结等所组成的。

外周免疫器官及组织内含有捕捉和处理抗原的巨噬细胞（Macrophage）、树突状细胞（Dendriticcell）和朗罕氏细胞（Langerhanscell），这些细胞能够迅速的捕获和处理抗原，并将处理后的抗原递呈给免疫活性细胞。外周免疫器官与一级免疫器官具有不同之处，它们都起源于胚胎晚期的中胚层，外周免疫器官在动物的终生都持续地存在。一般，切除一部分二级免疫器官对动物的免疫功能的影响不是非常的明显。

（一）淋巴结

淋巴结（Lymphnode）呈圆形或豆状，它一般可分布于淋巴循环系统的各个部位，淋巴结的功能是具有捕获体外进入血液—淋巴液的抗原物质。淋巴结外包裹着由结缔组织构成的被膜结构，输入淋巴管通过被膜与被膜下的淋巴窦相通，其内部则是由网状组织构成支架，里面充满着淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞。

淋巴内部实质可分为皮质和髓质两部分。皮质又分靠近被膜的浅皮质区和靠近髓质的深皮质区（又称副皮质区），浅皮质区于深皮质区之间并无明显的界限。浅皮质区内主要含有B细胞，故又称非胸腺依赖区，在新生动物中没有生发中心。浅皮质区也称初级淋巴小结，其中含有淋巴小结，主要由B细胞聚集而成。当接触抗原刺激后，B细胞分裂增殖形成生发中心。生发中心又称二级淋巴小结，内含有处于不同分化阶段的B细胞和B细胞经抗原刺激分化后的终末细胞即浆细胞，还存在少量T细胞。无菌动物淋巴结的生发中心不明显，胸腺切除一般不影响生发中心。淋巴小结和髓质之间为副皮质区，淋巴小结周围和副皮质区中主要含有T细胞，故称胸腺依赖区，在该区也有树突状细胞和巨噬细胞等的存在。淋巴结髓质由髓索和髓窦组成。髓索中含有B细胞、浆细胞和巨噬细胞等。髓窦位于髓索之间，为淋巴液通道，与输出淋巴管相通。髓窦内有许多巨噬细胞，能吞噬和清除细菌等异物。此外，淋巴结内免疫应答生成的致敏T细胞及特异性抗体可汇

集于髓窦中随淋巴循环进入血液循环分布到机体全身发挥作用。

猪淋巴结的结构与其他哺乳动物淋巴结在组织学结构上有所不同，其淋巴小结在淋巴结的中央，相当于髓质的部分在淋巴结外层。淋巴液由淋巴结门进入淋巴结流经中央的皮质和四周的髓质，最后由输出管流出淋巴结。水禽类有两对淋巴结，即颈胸淋巴结和腰淋巴结。鸡虽然没有淋巴结，但淋巴样组织广泛分布于体内，有的呈弥散性、有的呈淋巴集结还有的呈小结状等。它们在抗原刺激后都能形成生发中心。淋巴结主要有过滤和清除异物侵入机体的致病菌、毒素或其他有害异物等免疫功能。通常随着组织淋巴液进入局部淋巴结内的细菌等异物，能够被淋巴窦中的巨噬细胞能有效地吞噬和清除掉，但对病毒和癌细胞的清除能力较低。免疫应答的场所，淋巴结的实质部分中的巨噬细胞和树突状细胞能捕获和处理外来的异物性抗原，并将抗原递呈给 T 细胞和 B 细胞，活化增殖后形成致敏 T 细胞和浆细胞。在此过程中，因淋巴细胞大量增殖而生发中心增大。因此细菌等异物侵入机体后，局部淋巴结肿大，与淋巴细胞受抗原刺激后大量增殖有关，是产生免疫应答的表现。

（二）脾　脏

脾脏（Spleen）是体内最大的免疫器官，具有造血和贮血以及免疫的双重功能。脾脏是血液通路上的滤过器官，可以滤除血液中的抗原性异物，滤除因自身衰老而死亡的一些细胞的碎片物质。脾脏处于胚胎时期时就担负红细胞生成的任务，以后则负责贮存红细胞和血小板。

脾脏外部包有被膜，内部的实质分为红髓和白髓两部分，红髓的主要功能是生成红细胞和贮存红细胞，还有捕获抗原的功能；白髓的主要功能则是产生免疫应答的部位。禽类的脾较小，白髓与红髓分界不明显，主要参与免疫功能，贮血作用很小。白髓内围绕脾中央动脉周围的淋巴组织称淋巴鞘，主要由 T 细胞组成，为胸腺依赖区。白髓内还有淋巴小结和生发中心，含大量 B 细胞，为非胸腺依赖区。淋巴小结外周的白髓区仍以 T 细胞分布为主，而在白髓与红髓交界的边缘区则以 B 细胞为多。红髓位于白髓周围，占据大量部位较多。红髓由脾索和脾窦组成，脾索为彼此吻合成的呈网状的淋巴组织索，含大量 B 细胞和浆细胞以及巨噬细胞和树突状细胞等。由脾索围成的脾窦内充满血细胞，脾索中和脾窦壁上的巨噬细胞能吞噬和清除血液中的细菌等有害异物和凋亡的血细胞。

脾脏是免疫应答的重要场所，脾脏中栖居着大量淋巴细胞和其他免疫细胞，抗原一旦进入脾脏即可诱导 T 细胞和 B 细胞的活化和增殖，产生致敏 T 细胞和浆细胞。因此脾脏是体内产生抗体的主要器官。在正常情况下，淋巴

细胞经血液循环进入并自由通过脾脏或淋巴结，但是当抗原进入脾脏或淋巴结以后，就会引起淋巴细胞在这些器官中滞留，使抗原敏感细胞集中到抗原集聚的部位附近，增进免疫应答的效应。许多佐剂能诱导这种滞留，所以滞留作用可能是佐剂作用的原理之一。脾脏还可以产生吞噬细胞增强激素，在脾脏有一种含苏—赖—脯—精氨酸的 4 肽激素，称为特夫素，它能增强巨噬细胞及中性粒细胞的吞噬作用。

（三）哈德氏腺

哈德氏腺（The gland of Harder）是存在于禽类眼窝内的腺体之一，又称瞬膜腺。它位于眼窝中腹部，眼球后中央，在视神经区呈喙状延伸，形成不规则的带状。整个腺体由结缔组织分割成许多小叶，小叶内有腺泡、腺管及排泄管。腺泡上皮由一层柱状腺上皮排列而成，上皮基膜下含大量浆细胞和部分淋巴细胞。

哈德氏腺具有分泌泪液润滑瞬膜，对眼睛有机械性保护作用外，此外还能在抗原刺激下，产生免疫应答，分泌特异性抗体。这些抗体通过泪液进入呼吸道黏膜，成为口腔、上呼吸道的抗体来源之一，在上呼吸道免疫方面起着非常重要的作用。哈德氏腺不仅在局部形成坚实的屏障，还影响全身免疫系统，调节体液免疫。在免疫雏鸡时，由于它对疫苗能产生应答反应，不受母源抗体的干扰，因此对提高免疫效果，起着非常重要的作用。

（四）肠道相关淋巴样组织

由于抗体主要是由外周淋巴器官和相关组织产生的，因此它们不仅包括脾脏和淋巴结，也包括骨髓、扁桃体和散布全身的淋巴组织，特别是黏膜部位的淋巴组织即淋巴小结。虽然这些淋巴组织在形态学方面不具备完整的淋巴结结构，但它们却构成了机体重要的黏膜免疫系统。存在于消化道内的淋巴组织总称为肠道相关淋巴样组织，包括有集合淋巴结和阑尾两种。由于消化道为与外界接触的器官，因此常有大量的外来抗原性异物进入到消化道中，因此淋巴组织广泛的存在于肠壁之中。而肠集合淋巴结则是处于哺乳动物肠黏膜下的淋巴滤泡群，其在回肠黏膜下的固有层中的存在尤为显著。小结之间有弥散的淋巴组织存在其中含有 T 细胞和 B 细胞。集合淋巴小结则较易产生 IgA 和 IgE。淋巴细胞总数的 70% 以上为黏膜部的集合淋巴结 B 细胞，而 T 细胞只占到 10% ~20% 。

综上所述，脾脏产生抗体的量最多，但骨髓产生的抗体总量最大，对某些抗原的应答，骨髓所产生的抗体可占抗体总量的 70% 。肠道黏膜集合淋巴结、消化道、呼吸道和泌尿生殖道黏膜下层的许多淋巴小结和弥散淋巴组织，均含有丰富的 T 细胞和 B 细胞及巨噬细胞等。黏膜下层的淋巴组织中 B

细胞数量比T细胞多，而且多是能产生分泌型局部抗体IgA的B细胞，T细胞则多为具有抗菌作用的了γδT细胞。许多佐剂，如含有明矾或油包水乳剂的佐剂，因形成不溶性的抗原贮存库而发挥作用，这种异物性物质可刺激肉芽组织形成，在这种肉芽组织也可以产生抗体生成细胞，在此种情况下很大部分的抗体是由它们生成。

第三节 免疫细胞

所有直接或间接参与到免疫应答的过程中的细胞都统称为免疫细胞（Immunocyte）。免疫细胞的功能相异且种类繁多，但是各种免疫细胞之间互相作用互相依存。根据它们在免疫应答过程中的功能及其作用机理，可将免疫细胞分为淋巴细胞和辅助细胞两大类。淋巴细胞包括有免疫活性细胞，除此之外，淋巴细胞还包括自然杀伤细胞、杀伤细胞等。此外，还有一些其他种类的细胞（如各种粒细胞和肥大细胞等），都参与到了免疫应答过程中的某一个特定的环节之中。

在淋巴细胞中，在受到抗原性的物质刺激后，能够分化增殖并产生特异性免疫应答的细胞，称为免疫活性细胞（Immunocompetent cell，ICC），也称为抗原特异性淋巴细胞。免疫活性细胞主要是指T细胞和B细胞两大类细胞，它们在免疫应答的过程中起到核心的作用。淋巴细胞在体内的数量多且分布广泛，除中枢神经系统外，机体内的所有组织中均存在淋巴细胞。单核吞噬细胞和树突状细胞，在免应答过程中起重要的辅佐作用，故将其称为免疫辅佐细胞（Accessory cell，Acell），免疫辅佐细胞具有捕获和处理抗原以及能把抗原递呈给免疫活性细胞的功能。

一、T细胞和B细胞来源、分布以及形态特点

T细胞和B细胞均来源于骨髓的多能造血干细胞，骨髓多能干细胞的祖先来自胚胎早期最原始的血淋巴先驱细胞，经胚胎卵黄囊血岛、胚胎肝和脾内增值后进入到骨髓中成为骨髓多能干细胞。多能造血干细胞中的淋巴干细胞分化为T细胞的前体和B细胞的前体。之后，前体T细胞进人到胸腺中后，发育为成熟的T细胞，此成熟的T细胞即被称为胸腺依赖性淋巴细胞（Thymusdependent lymphocyte），又称T淋巴细胞，简称T细胞。成熟的T细胞经血液循环，分布到外周免疫器官的胸腺依赖区中并可进行增殖，也可以再经过血液循环或淋巴循环进入到组织中，然后经过血液和淋巴的再循环，到达机体各个部位。成熟的T细胞在一般正常的状态下都是静止的细胞，

一旦被抗原刺激后即可被激活而进一步增殖，最终可分化成为效应性T细胞。效应性T细胞具备细胞免疫的功能，可以杀伤、清除抗原物质。但绝大部分效应性T细胞的存活期一般较短只有4～6 d，其中的一部分可以转变为长寿命的免疫记忆细胞，进入淋巴细胞再循环后一般可存活数月到数年。

前体B细胞在哺乳类动物的骨髓或鸟类的腔上囊中分化并发育为成熟的B细胞，此成熟的B细胞又称为骨髓依赖性淋巴细胞（Bone marrow dependent lymphocyte），简称B细胞。B细胞分布在外周淋巴器官的非胸腺依赖区内并进行增殖。B细胞接受抗原刺激后即被活化并进行增殖和分化，最终转变成为浆细胞，但浆细胞一般只能存活2 d，浆细胞产生特异性抗体，由此形成机体的体液免疫。在分化的过程中一部分B细胞成为免疫记忆细胞，参与淋巴细胞再循环，它们是长寿B细胞一般可存活100 d以上。

T细胞和B细胞在光学显微镜下均为小淋巴细胞，呈现球型，直径为5～7 μm，在形态上难于区分。且胞浆少，胞浆呈现浅蓝色，一般看到的只在核的一边呈现弯月形，电镜下可见细胞内有电子密度低的常染色质和电子密度高的异染色质。在扫描电镜下观察，可见多数的T细胞的表面光滑，有较小绒毛突起；但B细胞表面较为粗糙，有较多绒毛突起，这一区别可作为确定不同亚群的依据尚不能作为T细胞和B细胞的特征性标志。

二、T细胞和B细胞的表面标志

存在于淋巴细胞表面有大量不同种类的蛋白质分子，将这些表面分子称为表面标志（Surfacemarker），淋巴细胞有许多不同的表面标志。表面标志不仅可用于鉴别T细胞和B细胞及其亚群，还在研究淋巴细胞的分化过程和功能以及临床诊断方面具有重要的意义。

根据功能不同，可将T细胞和B细胞的表面标志分为表面受体和表面抗原两大类。表面受体是指淋巴细胞的表面上能与相应配体，如特异性抗原、绵羊红细胞、补体等，产生特异性结合的分子结构。表面抗原则是指在淋巴细胞或其亚群细胞表面上能被特异性抗体，如单克隆抗体所识别的表面分子，在淋巴细胞分化的过程中产生表面抗原，故又称为分化抗原。不同的研究者和实验室已建立了多种单克隆抗体系统以用于鉴定淋巴细胞表面抗原，如常用的OKT系统和Leu系统。OKT系统的单克隆抗体OKT1，OKT3，OKT4和OKT5等均可检测出相应的表面抗原；Leu系统单克隆抗体Leu1，Leu2和Leu3等也都可检测出相应的表面抗原。由于系统不同，因此同一表面抗原可被不同名称的单克隆抗体所识别，由此出现有多个命名，经国际会议商定以分化群（Cluster on differentiation，CD）统一命名淋巴细胞表面抗

原或分子。如将单抗 OKT3 和单抗 Leu4 所识别的同一分化抗原命名为 CD3 等，但表面抗原和表面受体并无严格的区别，有些表面受体已被命名为 CD 抗原，如 E 受体即为 CD2。有些 CD 抗原也有受体特性，如 CD4 可视为 MHC Ⅱ类分子的受体等。

（一）T 细胞的表面标志

1. T 细胞抗原受体（TCR）

T 细胞抗原受体（T cell antigen receptor，TCR）是位于 T 细胞表面的具有识别和结合特异性抗原的分子结构。大约 95% 的 T 细胞的 TCR 都是异二聚体，且均由 α 链和 β 链经二硫键连接而成，每条链又可折叠形成可变的 V 区和恒定的 C 区两个功能区。其中 C 区有四五个氨基酸残基伸入胞浆内并与细胞膜相连，而 V 区则为与抗原结合部位。α 链与 β 链分别有 248 个氨基酸和 282 个氨基酸，分子质量分别为 40 ~ 50 ku 和 40 ~ 45 ku。

只有当抗原片段或决定簇与抗原递呈细胞上的 MHC 分子结合在一起时，TCR 才能识别和结合抗原，T 细胞的 TCR 才能识别或结合 MHC Ⅱ类分子（或Ⅰ类分子），即 TCR 识别抗原须受 MHC 分子与抗原片段结合的制约。在 T 细胞发育的过程中各个幼稚 T 细胞克隆的 TCR 基因，经过不同的重排后可形成几百万种以上不同序列的 V 区基因，它们均可编码相应数量的、不同特异性的 TCR 分子。在同一个体内，可能有数百万种 T 细胞克隆及其特异性的 TCR，故能识别数量庞大的抗原决定簇。每个成熟的 T 细胞克隆内各个细胞具有不同的 TCR，能识别不同的特异性抗原决定簇。通常 TCR 又称 Ti 分子，这是由于 TCR 与 Ig 一样具有独特；而且 TCR 与细胞膜上的 CD3 抗原通常紧密结合在一起形成复合体而称 TCR 复合体。TCR 不能识别和结合单独存在的抗原片段或决定簇。少数 T 细胞的 TCR 是由 γ 链和 δ 链组成，称为 γδT 细胞，其在胸腺内分化发育而在外周血循环中分布较少，在皮肤和肠道黏膜相关淋巴组织中较多。

2. 有丝分裂原受体

丝裂原属于外源性凝集素，多为植物种子中提取的糖蛋白或细菌的结构成分或产物等。丝裂原能够刺激静止的淋巴细胞转化成淋巴母细胞，这些细胞表现为胞浆增多，体积增大和 DNA 合成的增加，同时进行有丝分裂等的变化。

淋巴细胞转化试验就是以 PHA 作为促分裂因子来检测淋巴细胞转化功能，淋巴细胞转化试验在临床上是极其常用的，其转化率的高低常作为衡量机体细胞免疫水平的指标。细胞免疫缺陷以及患恶性肿瘤或某些其他疾病时，转化率显著降低，甚至无转化现象。

3. CD2

CD2 是 T 细胞的重要表面标志，B 细胞无此抗原。CD2 是指红细胞的受体，一些动物和人的 T 细胞在体外能与绵羊红细胞结合，形成红细胞花环。不同种动物的 T 细胞 CD2 性质可能有所差异。鉴别 T 细胞及检测外周血中的 T 细胞的比例及数目的常用方法是应用 E 花环试验，但此试验并不能反映细胞免疫功能状态。对于不同种的动物在做花环试验时所要求的指示细胞也不完全相同。

4. CD3

CD3 仅存在于 T 细胞表面，CD3 是由 γ，δ，ε，ε，ζ，η5 条多肽链之间相互结合形成 3 个二聚体的复体所组成的，其中 γ 与 ε 链形成异二聚体，δ 与 ε 链形成异二聚体。大约 90% 的 CD3 复合体是由两条 ζ 链之间形成的同源二聚体，而少数的 CD3 复合体是由 ζη 链形成的异二聚体。ζ 与 η 链由相同基因所编码的，但在羧基端氨基酸有差异。

CD3 与 TCR 紧密结合形成含有 α，β，γ，δ，ε，ε，ζ，ζ8 条肽链的 TCR－CD3 复合体。CD3 的 γε、δε、ζζ 和 ζη 二聚体则是 TCR 表达和信号传导所必需的，这些二聚体的功能主要是在 T 细胞接受抗原刺激被激活后的早期过程中起到重要的作用。当二聚体把 TCR 与外来结合的抗原信息传递到细胞内时，就可进一步启动细胞内的活化过程。利用 CD3 分子的单抗做流式细胞试验，可检测外周血 T 细胞的总数。由于 CD3 单抗能封闭 T 细胞抗原受体，因此在抗排斥治疗及自身免疫病治疗中都有一定的意义。

5. CD4 和 CD8

CD4 和 CD8 分别出现在具有不同功能亚群的 T 细胞表面，CD4 和 CD8 分别称为 MHC Ⅱ类分子和 MHC Ⅰ类分子的受体。由于在同一 T 细胞表面只表达其中的一种，因此 T 细胞可分成 $CD4^+$ 的 T 细胞和 $CD8^+$ 的 T 细胞两大亚群。其中 $CD4^+$ 的 T 细胞具有辅助性 T 细胞（TH）的功能，$CD8^+$ 的 T 细胞具有抑制性 T 细胞（Ts）和细胞毒性 T 细胞（Tc/CTL）的效应。

CD4 与 CD8 之间的比值是一项重要的评估机体免疫状态的依据，在正常情况下，此比值为 2∶1，若比值偏离此值或倒置则说明机体免疫机能失调。CD8 分子通常是由 α 和 β 链组成的异二聚体，两条肽链的分子质量为 30～38 ku，每条链由一个类免疫球蛋白的胞外区、疏水跨膜区和 25～27 个氨基酸的细胞浆尾组成，两条链之间以二硫键相连。CD4 分子是一条单体膜糖蛋白，其分子量为 55 ku。CD4 分子含有 4 个 D1D4 类免疫球蛋白胞外区，一个疏水跨膜区和一个较长的含有 3 个丝氨酸残基的细胞浆尾。

另外，在 T 细胞表面还具有其他的表面标志或分子，具有一些较重要

的表面受体或抗原，它们都与T细胞的功能有关。所有T细胞表面均存在MHCⅡ类分子，受抗原刺激后，还可表达MHCⅡ类分子。T细胞表面也有白细胞介素1，IL1的受体以及各种激素和介质的受体，如肾上腺素、组胺等物质的受体，这些物质均是神经内分泌系统对免疫系统功能产生影响的物质基础，活化的T细胞可表达IL2受体。T细胞表面有CD28，活化的T细胞可表达CTLA4，它们都可与抗原递呈细胞表面的B7分子结合，在T细胞的活化中起到共刺激信号的作用。还有与淋巴细胞功能相关的抗原1，包括有CDlla/CDl8、LFA1；以及CD45R、细胞黏附分子1ICAM1和CD54；CD40配体CD40L等。

小鼠T细胞的表面标志为Thy1抗原，Thy1抗原是鉴定小鼠T细胞最有实用价值的抗原，而B细胞没有这种抗原。Lyl，2，3，5均为T细胞所特有，Ly4存在于B细胞。Ly抗原在胸腺细胞中大量存在，经胸腺诱导的T细胞含有这种抗原。可用Ly抗原将小鼠T细胞分为Lyl、Ly2和Ly3三个亚群，其中Lyl为TH细胞，Ly2和Ly3则为抑制性T细胞（Ts）或细胞毒T细胞（Tc）。Lyl、Ly2和Ly3均为效应性T细胞（TE）。

（二）B细胞的表面标志

1. B细胞抗原受体

研究表明，由B细胞表面的膜免疫球蛋白（Membraneimmunoglobulin，mlg）和一个经二硫键连接的称为Igα/Igβ的异二聚体分子构成的跨膜蛋白复合体，成为B细胞表面的抗原受体（Bcellreceptor，BCR）。mIg是抗原的受体，能与相应的抗原特异性结合，又是具有免疫球蛋白特有的抗原决定簇的表面抗原，能与抗免疫球蛋白的抗体特异性结合。Igα和Igβ都有一个很长的细胞浆尾，为48～61个氨基酸。其中两个Igα/Igβ异聚体分子与一个mlg分子相结合而形成一个BCR。Igα又称为CD79a，Igβ称为CD79b，类似于T细胞的CD3分子的作用。它们都是一种信号传导分子，在B细胞活化过程中起到非常重要的信号传导作用。

每个B细胞表面有10^4～10^5个免疫球蛋白分子。B细胞表面的mlg分子的Fc段镶嵌在细胞膜脂双层中，Fab段则在细胞外侧，起识别和结合抗原的作用。mlg分子的结构与血清中的Ig的分子结构相同，有一个短的细胞浆尾，mIgA为14个氨基酸，mIgM和mIgD为3个氨基酸，mIgG和mlgE为28个氨基酸，mlg主要是单体的IgM和IgD。mIg是鉴别B细胞的主要特征，常用荧光素或铁蛋白标记的抗免疫球蛋白抗体来鉴别B细胞。

2. 有丝分裂原受体

B细胞表面的有丝分裂原受体与T细胞不同，因此刺激B细胞转化的有

丝分裂原也不同。SPA 可刺激 B 细胞的转化，LPS 只刺激小鼠 B 细胞转化。PWM 既能刺激 T 细胞又能刺激 B 细胞，但 B 细胞的激活有赖于 T 细胞的存在。

3. Fc 受体（Fcreceptor，FcR）

Fc 受体能与免疫球蛋白的 Fc 片段结合。大多数 B 细胞表面都具有 IgG 的 Fc 受体，称为 FcTR。FcTR 可与 IgG 的 Fc 片段结合。B 细胞表面的 FcTR 与抗原－抗体复合物结合后有利于 B 细胞对抗原的捕获和结合，激活 B 细胞和抗体的产生。可用荧光素标记的凝聚性免疫球蛋白或可溶性免疫复合物（标记蛋白抗原）检测带有 Fc 受体的 B 细胞。也可用抗牛（或鸡）红细胞抗体致敏的牛（或鸡）红细胞（Erythrocyte sensitized with antibody，EA）作 EA 花环试验来检测带有 Fc 受体的 B 细胞。

人和鼠的 Fc 受体有所不同，人的 FcγR 有三种类型，能表达 FcγR 的细胞除了 B 细胞以外，还有一些其他的细胞，它们对免疫球蛋白亚类的特异性识别也有所不同。人的每个嗜中性粒细胞上有135 000个 FcγR，是血液中 FcγR 分布最多的细胞。IgE 的 Fc 受体有 FcεR Ⅰ 和 FcεR Ⅱ 两种类型，其中 FcεR Ⅰ 分布在肥大细胞和碱性粒细胞上，对单分子的 IgE 的亲和力较高。FcεR Ⅱ 在单核细胞、嗜酸性粒细胞、血小板和 B 细胞上，FcεR Ⅱ 由 321 个氨基酸组成单链分子，能够结合单独的 IgE 分子。一般情况下，FcεR Ⅱ 在血液中 IgE 含量较高的细胞上的数量相对较高。

4. 补体受体（Complement receptor，CR）

在大多数 B 细胞的表面都存在能与 Cab 和 C3d 发生特异性结合的受体，分别称为 CRl 和 CR2（即 CD35 和 CD21），其中 CR2 也是 EB 病毒的受体。CR 有利于 B 细胞捕捉与补体结合的抗原－抗体复合物，CR 被结合后可促使 B 细胞活化。常用 EAC 花环试验检测 B 细胞的补体受体，将红细胞（E）、抗红细胞抗体（A）和补体（C）的复合物与淋巴细胞混合后，可见 B 细胞周围有红细胞围绕形成的花环，由于围 T 细胞无 CR，所以 EAC 花环试验可以作为鉴定 B 细胞的一种主要的方法。

此外，B 细胞表面还存在其他一些重要的表面受体和抗原分子，如白细胞介素 2 受体、MHC Ⅱ 类分子、CDlla/CD18、CD19 和 CD54 等。其中 CD19 与 CD21 和 CD81 所形成的复合体，可以与 BCR 交联，对 B 细胞的活化起到一定的作用，活化的 B 细胞还可表达 B7 分子（CD80）。

还有一些对细胞起着关键性作用，且有一些特征性但不表达于细胞表面的分子为 B 细胞的内部标记，例如免疫球蛋白基因增强子，免疫球蛋白基因增强子有增强免疫球蛋白基因启动子的活性。增强子能被特异的 DNA 结

合蛋白所识别，调节启动子以增强 Ig 基因的转录，现已发现的 NF - KB 的 DNA 结合蛋白即能够结合到 k 轻链基因的增强子上，功能性的 NF - KB 结合蛋白出现在受到刺激的前 B 细胞中。

第四节 T 细胞和 B 细胞亚群及其功能

一、T 细胞的亚群及其功能

关于 T 细胞的亚群划分的原则和命名尚无统一标准。但是由于 T 细胞存在有许多个亚群，因此它们的功能和分化抗原均不相同。目前对 T 细胞亚群的划分是基于 CD 抗原的不同而划分的，可分为 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 两大亚群，然后再根据其在免疫应答中的不同功能进一步划分为不同的亚群。

（一） $CD4^+T$ 细胞

具有 CD_2^+、CD_3^+、$CD4^+$ 和 $CD8^+$ 的 T 细胞简称为 $CD4^+T$ 细胞，其 TCR 识别的抗原是由抗原递呈细胞的 MHC Ⅱ 类分子所结合和递呈的，按其功能分至少可以分为 3 个亚群：

（1）辅助性 T 细胞（HelperTcell，TH）。辅助性 T 细胞是体内免疫应答所不可缺少的亚群，辅助性 T 细胞的主要功能就是协助其他的免疫细胞发挥功能。辅助性 T 细胞通过分泌细胞因子及与 B 细胞的接触可促进 B 细胞的活化、分化和抗体产生。在混合淋巴细胞培养中能提高 Tc 和 Ts 细胞的增殖作用，使 Tc 细胞杀伤靶细胞的功能明显增强，此外还能够协助巨噬细胞增强迟发型变态反应的强度，通过分泌细胞因子可促进 Tc 和 TDT - t 的活化。从 TH 细胞的功能可见到 T 细胞 - T 细胞、T 细胞 - B 细胞、T 细胞 - 巨噬细胞之间的相互关系。TH 细胞可以根据产生细胞因子的种类的不同分为 THl 和 TH2 两个亚群，TH 细胞占外周血液中 T 淋巴细胞的 50% - 75%。TH 细胞在细胞因子合成及免疫调节功能上既有联系又有区别，从而使体内免疫调节过程变得更精细。

（2）导性 T 细胞（InducerTcell，TI）。导性 T 细胞能诱导 TH 和 Ts 细胞的成熟。

（3）迟发型变态反应性 T 细胞（Delayed type hypersensitivity Tcell，TDTH 或 TD）。迟发型变态反应性 T 细胞在免疫应答的效应阶段和Ⅳ型超敏反应中能释放多种淋巴因子导致炎症反应，发挥排除抗原的功能。

（二）$CD8^+T$ 细胞

具有 CD2＋、CD3＋、CD4 和 $CD8^+$ 的 T 细胞为 $CD8^+T$ 细胞，其 TCR 识别抗原是由抗原递呈细胞或靶细胞的 MHC Ⅰ类分子所结合和递呈的。根据功能可分为两个亚群：

（1）抑制性 T 细胞（Suppressor T cell，Ts）。Ts 细胞占外周血液 T 细胞的 10%～20%。抑制性 T 细胞的细胞表面有 CDll 抗原，能抑制 B 细胞产生抗体和其他 T 细胞分化增殖，从而调节体液免疫和细胞免疫。

（2）细胞毒性 T 细胞（Cytotoxic T cell，Tc）。细胞毒性 T 细胞又称为杀伤性 T 细胞，活化后称为细胞毒性 T 淋巴细胞（Cytotoxic T lymphocyte，CTL）。Tc 细胞占外周血液 T 细胞的 5%～10%，Tc 细胞具有记忆性能且有高度特异性。在免疫效应阶段，Tc 活化产生 CTL，对被病毒感染的细胞或癌细胞等靶细胞发挥杀伤作用，CTL 能连续杀伤多个靶细胞。

研究 T 细胞的亚群及其功能，在理论上和临床应用上都有重要的意义。正常的免疫应答是由各种免疫细胞，特别是通过 T 细胞亚群之间的相互促进或相互制约来完成的，使之既能清除抗原异物的同时又不损伤机体自身组织。例如 Ts 细胞过度活化时，可导致严重的免疫功能低下。抗 T 细胞的单克隆抗体，能特异性地与其某一亚群反应，从而阻断其免疫功能，因此这种单克隆抗体可作为免疫抑制剂，用于治疗某些自身免疫病或预防移植排斥反应。TH、TI 和 Ts 相互协调和制约可以对免疫应答起调节作用，是免疫调节的中心枢纽。当其失调或缺陷时，可表现为辅助性 T 细胞功能的加强，发生溶血性贫血等自身免疫病。

二、B 细胞的亚群及其功能

B 细胞的分群尚无统一标准，有的是根据 B 细胞表面膜免疫球蛋白与是否依赖 T 细胞而将 B 细胞分成不同的亚群，也有人是根据 B 细胞分化的不同阶段将其分为不同的亚群。

根据 B 细胞表面膜免疫球蛋白与是否依赖 T 细胞可以将 B 细胞分成 B1 和 B2 两个亚群。为 T 细胞非依赖性细胞，这类抗原有一个共同的特征，即都具有许多重复性的同一种抗原决定簇，一般都是高聚合的大分子。B1 细胞不需 TH 细胞的协助，在接受胸腺非依赖性抗原刺激后活化增殖，其细胞表面仅有 mIgM。B2 细胞为 T 细胞依赖性细胞，细胞表面同时有 mIgM 和 mIgD 存在，这类细胞在接受胸腺依赖性抗原刺激后发生免疫应答，因此必须有 TH 细胞的协助。B1 和 B2 细胞的主要区别在于其激活过程中是否需要

T 细胞的协助。两者在激活后皆可转化为浆细胞而分泌抗体。在小鼠中这两亚群的 B 细胞在免疫特性上有许多方面的差异。

第五节　K 细胞、NK 细胞及辅佐细胞

有一类淋巴细胞既无 T 细胞的表面标志如 CD3，又无 B 细胞的表面标志如 mIg，称为裸细胞（Nullcell），这些细胞直接来源于骨髓，其分化过程不依赖于胸腺或囊类器官。这类细胞主要包括具有非特异性杀伤功能的 NK 细胞和 K 细胞，这两类细胞从形态学上难以与淋巴细胞进行区分。

一、杀伤细胞

杀伤细胞（Killer cell，K cell），简称 K 细胞。K 细胞主要存在于腹腔渗出液、血液和脾脏，淋巴结中有很少量，在骨髓、胸腺和胸导管中含量极微。K 细胞的主要特点就是细胞表面具有 IgG 的 Fc 受体 FcγR，当靶细胞与相应的 IgG 抗体结合后 K 细胞就可以与结合在靶细胞上的 IgG 的 Fc 片段结合，从而被活化并释放溶细胞因子，同时裂解靶细胞，这种作用称为抗体依赖性介导的细胞毒作用（Antibodydependentcell—mediated cytotoxicity，ADCC）。在 ADCC 反应中，IgG 抗体与靶细胞进行特异性的结合，但 K 细胞的杀伤作用却是非特异性的，不需要识别抗原和 MHC 分子，任何被 IgG 结合的靶细胞均可被 K 细胞非特异性地杀伤。如果用酶破坏 Fc 片段或用 IgG 封闭 K 细胞上的 Fc 受体，则靶细胞不被杀伤。

K 细胞杀伤的靶细胞包括病毒感染的宿主细胞、恶性肿瘤细胞、移植物中的异体细胞及某些较大的病原体，如寄生虫等，所以 K 细胞在抗肿瘤免疫、抗感染免疫和移植物排斥反应中以及清除自身的凋亡细胞等方面都具有一定的意义。

二、自然杀伤性细胞

自然杀伤性细胞（Natural killer cell，NK cell）简称 NK 细胞，NK 细胞主要存在于外周血和脾脏中，占外周血淋巴细胞的 5% ~ 10%，淋巴结和骨髓中含量很少，胸腺中不存在。NK 细胞是一种大颗粒的淋巴细胞，细胞表面既没有 CD3 也没有 T 细胞受体。NK 细胞是一群既不依赖抗体，也不需要抗原刺激和致敏就能杀伤靶细胞的淋巴细胞，因而称为自然杀伤性细胞。NK 细胞表面有干扰素和 IL2 受体，其中干扰素可作用于 NK 细胞，然后可使 NK 细胞增强识别靶细胞的结构和溶解与杀伤靶细胞的活性。IL2 可刺激

NK细胞不断增殖和产生干扰素，发挥更强的杀伤作用。NK细胞表面存在着识别靶细胞表面分子的受体结构，通过此受体直接与靶细胞结合而发挥杀伤作用。

NK细胞有许多表面标志，如CD16、CD56和CD57等，其中CD16是NK细胞表面一种低亲和力的IgGFc片段羧基末端的受体。还有一些表面标志与其他免疫细胞所共有，如CD11a/CD18（LFA1）、CD45和CD54（ICAM1）等。NK细胞表面也有IgG的Fc受体，凡被IgG结合的靶细胞均可被NK细胞通过其Fc受体的结合而导致靶细胞溶解，因此NK细胞也具有ADCC的作用。此外NK细胞可表达少量的CD2和CD8分子。NK细胞对肿瘤细胞的杀伤作用是广谱的，因此可能是机体免疫监视机构的一个重要组成部分，是消灭癌变细胞的第一道防线。NK细胞对生长旺盛的细胞如骨髓细胞和B细胞均有一定的杀伤作用，表明NK细胞也有免疫调节作用。NK细胞的主要生物功能为非特异性地杀伤肿瘤细胞、抵抗多种微生物感染及排斥骨髓细胞的移植。

三、辅佐细胞

虽然T细胞和B细胞是免疫应答的主要承担者，但这一反应的完成还必须有单核吞噬细胞和树突状细胞的协助和参与才可能完成。这些对于抗原进行捕捉、加工和处理的细胞称为辅佐细胞（Accessory cell），简称A细胞。由于A细胞是一类在免疫应答中将抗原递呈给抗原特异性淋巴细胞的免疫细胞，故又称抗原递呈细胞（Antigen presenting cell，APC）。

（一）单核吞噬细胞

单核吞噬细胞（Mononuclear phagocyte）包括血液中的单核细胞（Monocyte）和组织中的巨噬细胞（Macrophage）两大类。单核细胞来自于骨髓干细胞，它是从原单核、前单核细胞、单核细胞到巨噬细胞的途径发育成熟的。单核细胞在骨髓中分化成熟后进人到血液中，在血液中停留数小时至数月后，经血液循环分布到全身多种组织器官中，分化为成熟的巨噬细胞。由此可见，巨噬细胞是完全成熟的单核细胞。巨噬细胞寿命较长一般可达数月以上，具有较强的吞噬功能。巨噬细胞表面有MHC Ⅰ类分子，但具有较多的是MHC Ⅱ类分子，特别是活化的巨噬细胞，可表达高水平的MHC Ⅱ类分子和共刺激B7分子，这些均与抗原递呈有关。单核细胞表面具有多种不同的受体，例如IgG的Fc受体以及补体C3b的受体，均有助于吞噬功能的进一步发挥。单核吞噬细胞有较强的黏附玻璃或塑料表面的特性，而T细胞、B细胞和NK细胞等淋巴细胞一般无黏附的能力，因此可以根据该特

点分离和获取单核吞噬细胞。

单核吞噬细胞的免疫功能主要表现在以下几方面：首先是吞噬和杀伤的作用。巨噬细胞可在抗体存在下发挥 ADCC 作用，巨噬细胞也是细胞免疫的效应细胞，经细胞因子如 IFNγ 激活的巨噬细胞更能有效地杀伤细胞内寄生菌和肿瘤细胞。单核吞噬细胞的吞噬和杀伤的作用是机体非特异性免疫的重要因素，组织中的巨噬细胞可吞噬和杀灭多种病原微生物和处理凋亡损伤的细胞，特别是结合有抗体 IgG 和补体 C3b 的抗原性的物质更易被巨噬细胞所吞噬。其次是抗原的加工和递呈的功能。巨噬细胞是免疫应答中不可缺少的免疫细胞。在免疫应答的过程中，巨噬细胞是一种非常重要的抗原递呈细胞，外源抗原性物质通过吞噬、胞饮等方式而被摄取到巨噬细胞中，在巨噬细胞中经过胞内酶的降解处理，形成许多具有抗原决定簇的抗原肽，随后这些抗原肽与 MHC Ⅱ类分子结合形成抗原肽 MHC Ⅱ类分子复合物，此复合物被呈送到细胞的表面供免疫活性细胞识别。单核吞噬细胞还有合成和分泌各种活性因子的功能。活化的巨噬细胞能合成和分泌许多酶类、白细胞介素、各种集落刺激因子（GMCSF，GCSF，MCSF）、干扰素 α（1FNα）、肿瘤坏死因子 α（TNFα）和前列腺素等 50 余种生物活性物质。

（二）树突状细胞

树突状细胞（Dendritic cell，D cell）简称 D 细胞，首先在淋巴器官的 T 细胞区发现，由于树突状细胞的表面有许多指状的或分枝状的突起，因此又称其为指状交叉网细胞。这些细胞在捕捉抗原并加工和递呈方面都起到重要的作用。树突状细胞来源于骨髓和脾脏的红髓，成熟后主要分布在脾脏和淋巴结中但在结缔组织中也广泛的存在。树突状细胞的胞内线粒体极其丰富，高尔基体也很发达，但无溶酶体及吞噬体，因此没有吞噬的能力。

大多数 D 细胞有较多的 MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类分子，只有少数的 D 细胞表面有 Fc 受体和 C3b 受体，可通过结合抗原抗体复合物将抗原递呈给淋巴细胞。树突状细胞可表达高水平的 MHC Ⅱ类分子和共刺激 B7 分子，因此它们比巨噬细胞和 B 细胞递呈抗原的能力都较强，因为巨噬细胞和 B 细胞在发挥 APC 功能之前都需要首先进行活化。树突状细胞在组织中通过吞噬或内噬的方式捕获抗原之后，即可迁移至血液和淋巴液中并在循环至淋巴器官后将抗原递呈给 TH 细胞。

根据所在部位的不同，树突状细胞还包括有滤泡树突状细胞、间质树突状细胞、并指状树突状细胞和朗罕氏细胞等。滤泡树突状细胞（Follicular dendritic cells）为另一种类型的树突状细胞，存在于淋巴结的富含 B 细胞的淋巴滤泡中。滤泡树突状细胞不表达 MHC Ⅱ类分子，因此不具有将抗原递

呈给 TH 细胞的功能，但滤泡树突状细胞可表达高水平的对抗体和补体的膜受体，这些受体可结合循环抗原——抗体复合物，从而促进淋巴结中 B 细胞的活化。抗原 - 抗体复合物在树突状细胞膜内的存在对于滤泡内记忆细胞的产生具有非常重要的作用，这些复合物存在于树突状细胞膜内的时间较长，一般可达数周、数月甚至数年。而存在于大多数器官中的树突状细胞为间质树突状细胞（Interstitial dendritic cells），如存在于心脏、肺脏守肝脏、肾脏和胃肠道等器官中。并指状树突状细胞（Interdigitating dendritic cells）是存在于二级淋巴组织的 T - 细胞区和胸腺的髓质。朗罕氏细胞（Langerhans cell）存在于皮肤和黏膜的组织中，具有较强的抗原递呈能力，特别在针对从皮肤进入的抗原所形成的免疫应答中起重要作用。

（三）B 细胞

B 细胞也是一类重要的抗原递呈细胞，具有较强的抗原递呈能力，可将某些抗原决定簇递呈给 TH 细胞产生免疫应答，特别是活化的 B 细胞可以表达共刺激 B7 分子。此外红细胞也兼有 A 细胞功能。

还有其他一些免疫细胞，胞浆中含有颗粒的白细胞统称粒细胞（Granulocyte），由于粒细胞有分叶状的细胞核，又称多形核白细胞。如将这些粒细胞用姬姆萨液染色后，再根据胞浆颗粒的染色特性将其分为嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞三种类型。粒细胞均来源于骨髓，其寿命较短，因此若要在外周血中维持恒定的数目就必须由骨髓不断地供应。

嗜中性粒细胞（Neutrophil）具有高度的移动性和吞噬功能，是血液中的主要吞噬细胞。嗜中性粒细胞的细胞表面有 Fc 及 C3b 受体，它在防御感染中起重要作用，并可分泌炎症介质而促进炎症反应，可处理颗粒性抗原并提供给巨噬细胞。嗜酸性粒细胞（Eosinophil）的胞浆内有许多嗜酸性颗粒，这些颗粒在电镜下呈晶体样结构，颗粒中含有多种酶，尤其富含过氧化物酶。在寄生虫感染及 I 型超敏反应性疾病中常见嗜酸性粒细胞数目增多。嗜酸性粒细胞能结合至被抗体覆盖的血吸虫体上而杀伤虫体，并能吞噬抗原 - 抗体复合物，同时释放出一些酶类，在 I 型超敏反应中发挥负反馈调节作用。嗜碱性粒细胞（Basophil）内含有大小不等的嗜碱性颗粒，颗粒内含有组胺、白三烯、肝素等参与 I 型超敏反应的介质，细胞表面有 IgE 的 Fc 受体，能与 IgE 抗体结合，带 IgE 的嗜碱性粒细胞与特异性抗原结合后，立即引起细胞脱粒，释放组织胺等介质，引起过敏反应。而肥大细胞（Mastcell）则存在于周围淋巴组织、皮肤的结缔组织，特别是在小血管周围、脂肪组织和小肠黏膜下组织等。肥大细胞表面有 IgE 的 Fc 受体、胞浆内的嗜碱性颗粒、脱粒机制及其在 I 型过敏反应中的作用与嗜碱性粒细胞十分相似。

第六章　主要组织相容性抗原系统

20 世纪初人们在研究皮片移植的过程中，发现了排斥现象，即在不同种属或同种不同系的动物个体间进行正常组织或肿瘤移植会出现排斥。后来免疫学的发展证明排斥反应本质上是一种免疫反应，是机体免疫应答的一种正向功能，它是由细胞表面的同种异型抗原诱导，这种代表个体特异性的同种抗原称为组织相容性抗原（Histocompatibility antigen）或移植抗原（Transplantation antigen）。经过 Gorer、Saell、Dausset 等科研人员的努力，终于在 20 世纪中期发现机体内与排斥反应有关的抗原系统多达 20 种以上，其中能引起强而迅速的排斥反应者称为主要组织相容性抗原，其编码基因是一组紧密连锁的基因群，称为主要组织相容性复合体（Major histocompatibility complex，MHC）；引起较弱排斥反应的抗原称为次要组织相容性抗原。同时还发现控制机体免疫应答能力与调节功能的基因（Immune response gene，Ir gene）也存在于 MHC 内。因此 MHC 不仅与移植排斥反应有关，也参与免疫应答的诱导与调节。

目前已知鸟类、哺乳动物都具有 MHC，它们的组成结构、分布和功能等却很相似。但是不同种属的动物其 MHC 及编码的抗原系统有不同的命名，小鼠的主要组织相容性抗原称为 H－2 系统（Histocompatibility antigen－2，H－2），人的则称为人白细胞抗原系统（Humanleucocyte antigen，HLA）。MHC 作为多态性非常丰富的基因系统，不但在 T 细胞分化发育中必不可少，而且在免疫应答的启动和调节中发挥重要的作用，MHC 是目前免疫学研究的热点内容之一。

第一节　小鼠的 MHC 系统

1939 年，Gorer 在进行近交系小鼠的血型抗原研究时发现了四组血细胞抗原，后来证实第Ⅱ组抗原与移植物的排斥相关，同样 Snell 也在 20 世纪 30 年代用近交系小鼠研究肿瘤时发现了与组织相容性相关的抗原。迄今为止，对人类 MHC 的认识在很大程度上也来自对小鼠 MHC 即 H－2 复合体的研究。小鼠作为常用的实验动物，具有繁殖快、易于饲养等特点成为进行 MHC 研究的最重要动物。

一、小鼠 H－2 基因复合体的结构

H－2 抗原的基因定位于小鼠第 17 号染色体上，长约 1 500 kb，包括 4 个遗传区域，即 K 区、D 区、I 区、S 区（见图 6－1）。K 区基因称为 H－2K 座，D 区分为 H－2D 座和 H－2L 座，K 和 D 区基因可编码 H－2 抗原系；I 区基区编码的分子称为 I 区相关抗原或 Ia 抗原（I－region associated antigen，Ia），I 区又可分为二个亚区，即 I－A 和 I－E，每个区或亚区内至少包括一个基因座，I－A 亚区含有 Aα 和 Aβ 两个座，I－E 亚区含 Eα 和 Eβ 两个座；S 区含有 6 个座，可分别编码补体成分、性限制蛋白（Sex-limited protein，Slp）以及 TNF 等因子。

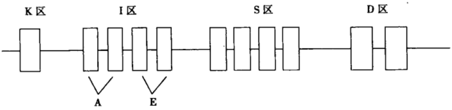


图 6－1　小鼠 H－2 复合体的结构

二、小鼠 H－2 基因复合体的分类

按照所编码的 H－2 分子的结构和功能的不同，H－2 复合体基因可以分为三类。

（一）H－2 Ⅰ 类基因

编码 H－2 Ⅰ 类分子的重链，包括 H－2K、H－2D 和 H－2L 等，重链与 β2 微球蛋白结合形成异源二聚体，在细胞膜表面表达。Ⅰ 类分子主要参与向 $CD8^+$T 细胞提呈抗原。

（二）H－2 Ⅱ 类基因

指 I 区基因，包括 I－A 和 I－E 等。Ⅱ 类分子主要参与向 $CD4^+$T 细胞提呈抗原。

（三）H－2 Ⅲ 类基因

指 H－2S 区的基因，主要有补体相关的 C4、C2 和 Bf 基因以及热休克蛋白基因和肿瘤坏死因子基因。

第二节 人类的 MHC 系统

1958 年，法国 Dausset 发现肾移植之后以及多次接受输血的患者血清中含有能够和供者白细胞发生反应的抗体，研究发现这些抗体是由人的主要组织相容性抗原诱导的，由于这类抗原首先在白细胞表面被发现，所以人的主要组织相容性抗原被称为人白细胞抗原（Humanleucocyte antigen，HLA）。

一、人类 HLA 基因复合体的结构

HLA 复合体位于人第 6 号染色体的短臂上，目前已经鉴定出 224 个基因座，按其产物的结构、表达方式、组织分布与功能可将这些基因座分为三类：

（一）HLA－Ⅰ类基因

也称为经典的 HLA 基因，包括 HLA－A、HLA－B、HLA－C 基因，编码 HLA－Ⅰ类分子的重链，分布广泛，而且具有高度多态性。

（二）HLA－Ⅱ类基因

Ⅱ类基因一般指 DR、DP、DQ，编码产物为双链肽，其中某些基因的产物与内源性抗原的处理与呈递有关。

（三）HLA－Ⅲ类基因

位于 HLA－Ⅰ类基因和 HLA－Ⅱ类基因之间，主要包括编码相应的补体成分、21 羟化酶基因、肿瘤坏死因子基因以及热休克蛋白 70 基因。

二、人类 HLA 基因复合体的遗传特点

人类的 HLA 复合体具有不同于其他真核基因系统的遗传特征。

（一）单倍型遗传

HLA 复合体是一组紧密连锁的基因群，连锁在一条染色体上的等位基因称为一个单倍型（Haplotype），而其表达的抗原产物为表现型（Phenotype），又可简称为表型。每一基因都是显性基因，都编码相应抗原，因此，子代个体的细胞表面有两个单倍型表达的抗原，当亲代的遗传信息传给子代的时候，HLA 单倍型作为一个单位遗传下去，子女的 HLA 染色体中，其中一个单倍型与父亲相同，另一个与母亲相同。

（二）高度的多态性

多态性（Ploymorphism）是指处于随机婚配的群体中，同一基因座位可存在两种以上的基因产物，有些可多达几十种，即存在两种或两种以上的基

因型，根据目前已知的各座位上等位基因总数（7 个座位共有 148 个）来估算单倍型可以在群体中表达高于380 000 000个，个体表现型和基因型则更多，远远超过全世界总人口数，很难找到两个单倍型完全相同的人。HLA 的高度多态虽然对维持种群的生存具有重要的生物学意义，但是对器官移植找到合适的配型增加了很大的困难。

（三）连锁不平衡性

HLA 复合体上各等位基因都有各自的基因频率。基因频率是指某一特定等位基因出现的机会与该基因座中全部等位基因总和的比例。实际上，连锁的基因不是随机组合在一起，而是某些基因比其他基因更多或更少地连锁在一起，从而出现连锁不平衡（Linkage disequilibrium）。在 HLA 复合体中已发现有 50 对以上等位基因显示连锁不平衡。产生连锁不平衡的机制尚不清楚。

（四）多基因性

HLA 复合体含有多个不同的 HLAI 类和Ⅱ类基因，编码的产物具有相似的结构和功能。这种现象称为多基因性。也可以理解为对于每一个个体来讲，其细胞表面具有独特的一组 HLA 分子，结合不同的抗原肽。

第三节　HLA 分子的结构、分布和功能

通常 HLA－Ⅰ和Ⅱ类分子以糖蛋白的形式表达在细胞膜表面，HLA－Ⅲ类分子则存在于血浆中。

一、HLA 的分子结构和分布

1987 年，Bjorkman 等通过 X 射线得到了 HLA 的立体结构，所以对 HLA 分子的结构研究取得了长足的进步。

（一）HLA－I 类抗原

I 类抗原是一种膜糖蛋白，在人体内分布广泛，存在于所有有核细胞的膜上，以淋巴细胞上的密度最大。也分布于血清、尿液、初乳等体液中。I 类抗原是由一条重链和一条轻链借非共价键联结而成的双肽链，一条是由 HLA 基因编码的重链（也称为 α 链），I 类抗原的特异性主要集中表现在重链上；另一条为第 15 号染色体上非 HLA 基因所编码的 β 链（也称为轻链），即 β2 微球蛋白。HLA－I 类分子根据重链的基本结构可以划分为三个区（见图 6－2）。

（1）胞外区。主要包括 3 个结构域，即 α1、α2 和 α3，分别由约 90 个

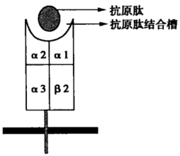


图 6-2　HLA-Ⅰ类分子的结构

氨基酸残基组成，由 HLA-Ⅰ类基因的外显子 2、3、4 所编码，其中的 α1 和 α2 构成肽结合槽，可以容纳 8～10 个氨基酸残基，Ⅰ类分子的多态性主要由此区域决定。α3 结构域序列相对保守，该区主要是 T 细胞的 $CD8^+$ 分子结合的部位。

（2）跨膜区。主要是疏水性氨基酸组成，形成 α 螺旋结构穿过类脂双层，并将Ⅰ类分子锚定在细胞膜上。

（3）胞内区。由大约 30 多个氨基酸残基组成，该区主要参与调节 HLA-Ⅰ类分子与其他细胞骨架成分之间的相互作用，也与细胞内外的信号传递有关。

（二）HLA-Ⅱ类抗原

Ⅱ类抗原是由 HLA-D 区（DR、DQ、DP）座位所编码的抗原。Ⅱ类抗原是由 α 和 β 两条糖基化的跨膜多肽链构成的异源二聚体，主要表达在某些细胞表面，如 B 细胞、巨噬细胞和其他抗原呈递细胞等，不如Ⅰ类抗原分布广泛。Ⅱ类分子的基本结构与Ⅰ类分子相似（见图 6-3）。

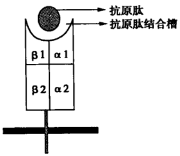


图 6-3　HLA-Ⅱ类分子的结构

（1）胞外区。α 和 β 链在胞外部位均可以形成两个结构域，即 α1、α2 和 β1、β2，都含有大约 90 个氨基酸残基，其中 α1 和 β1 构成抗原肽结合

槽，该槽可以容纳 13 个或者更多个氨基酸残基。α2 和 β2 属于免疫球蛋白超家族，Th 细胞的 $CD4^+$ 分子主要与Ⅱ类分子的这一区域结合。

（2）跨膜区。含有 25 个氨基酸残基，形成螺旋状，借助于很短的疏水区与胞外部分相连。

（3）胞内区。含有 10～15 个氨基酸残基，与跨膜信号的传递有关。

（三）HLA－Ⅲ类抗原

补体系统中的一些成分，如：C2、C4、B 因子等由Ⅲ类基因编码，它们均分布于血清中。

二、HLA 的功能

Ⅰ类抗原在移植排斥反应中起重要作用，对细胞毒性 T 细胞（CTL）的识别功能起制约作用。Ⅱ类抗原与免疫应答及免疫调节有关，Ⅱ类抗原的存在，是 T 细胞活化的必需信号。

三、HLA 抗原的表达与调控

在各种类型细胞表面，HLA 分子表达与否以及表达的密度可以受不同的因素调节，一般认为，调控 HLA 分子表达的主要环节是转录速率。可能影响 HLA 表达的因素有：

（1）组织细胞分化阶段。HLA 分子是造血干细胞和某些免疫细胞的分化抗原，在细胞分化、成熟的不同阶段，各类 HLA 抗原的表达可有改变。例如 HLA－DQ 分子是人单核细胞的成熟标记；Ⅱ类抗原仅表达在激活的 T 细胞表面。

（2）某些疾病状态。某些传染性疾病、免疫性疾病、造血系统疾病以及肿瘤等均可影响 HLA 抗原表达。如 AIDS 病患者单核细胞 HLA－Ⅱ抗原表达明显减少，某些肿瘤细胞表面 HLA－Ⅰ类抗原表达减少。

（3）生物活性物质。某些细胞因子，例如三类 IFN（α、β、γ）以及 TNFα、TNFβ 均可增强不同类型细胞 HLA－Ⅰ类抗原表达；具有Ⅱ类抗原诱生能力的细胞因子包括 IFNγ、TNFα、IL－6 及 GM－CSF 等。此外，某些激素、某些神经递质和神经肽也可影响 HLA 分子表达。

第四节　MHC 分子功能

MHC 分子作为代表个体特异性的主要组织抗原，在排斥反应中起重要作用。MHC 的主要功能包括：

一、参与对抗原处理

MHC 分子在多个环节参与对抗原处理。外源性抗原在 APC 内被降解成免疫原性多肽，并与 MHC－Ⅱ类分子结合成稳定的复合物，从而保证了多肽不被进一步降解为氨基酸。

二、约束免疫细胞间的相互作用

具有同一 MHC 表型的免疫细胞才能有效地相互作用，称为 MHC 限制性（MHC restriction）。巨噬细胞与 TH 细胞间的相互作用受 MHC－Ⅱ类抗原的约束。只有 MHC－Ⅱ类分子阳性细胞才具有抗原呈递能力，且细胞表面Ⅱ类分子密度与其抗原呈递能力呈正相关。Tc 与病毒感染的靶细胞间相互作用受 MHC－Ⅰ类抗原的约束。

三、参与对免疫应答的遗传控制

机体对某种抗原物质是否产生应答以及应答的强弱是受遗传控制的。控制免疫应答的基因称为 Ir 基因，一般认为位于 HLA－Ⅱ类基因区内。

四、诱导自身或同种淋巴细胞反应

MHC 分子可作为自身或同种反应的刺激分子从而诱导免疫应答或参与免疫调节。

五、参与 T 细胞分化过程

早期 T 细胞在胸腺中发育为成熟 T 细胞的过程中，伴随着一系列表面标志的变化。MHC 分子对 T 细胞的分化发育起着重要作用，早期 T 细胞必须与表达 MHC－Ⅰ或Ⅱ类抗原的胸腺上皮细胞接触才能分别分化成 $CD8^+$ 或 $CD4^+$ T 细胞。

第五节 HLA 的医学意义

一、HLA 与疾病相关性

不同个体对疾病易感性的差异在很大程度上是由遗传因素所决定的，在群体调查中比较患者与正常人某些特定等位基因及其产物的频率，这是研究遗传决定的对疾病易感性的主要方法。

HLA 是目前已知的具有最复杂多态性的人类基因系统，且 Ir 基因正位于 HLA 复合体内，因此考虑到 HLA 与某些免疫性疾病可能存在相关性。20 世纪 60 年代末发现了某些疾病与特定的 HLA 型别呈非随机分布，其中 91% 以上的北美白人强直性脊柱炎患者带有 HLA－B27 抗原，这种两个遗传学性状在群体中同时出现呈非随机分布，称为关联（Association）。HLA 是第一个被发现与疾病有明确联系的遗传系统。迄今已发现 60 余种疾病与 HLA 有关联，这些多属于病因或发病机制未知，与免疫异常有关，或有家族倾向及环境诱发因素的疾病。特定疾病与某种 HLA 型别的相关性可通过相对危险性（Relative risk，RR）来评估，其公式为：

$$RR = (P+ \times C-) / P- \times C+$$

式中：$P+$——具有某种抗原的病人数；

$C-$——不带此抗原的对照组人数；

$P-$——不带此抗原的病人数；

$C+$——具有此抗原的对组人数。

RR 表示带某种 *HLA* 抗原的人与无此种抗原的人在患某种疾病的危险性上的比值。$RR=1$ 时，两者无关联；$RR>4$，则认为此病与某种 *HLA* 抗原肯定有关联；*RR* 值越大，表示带此抗原的人患某病的危险性越大。反之，若 $RR<1$，表示带此抗原者对某病有抵抗性。

二、HLA 表达异常与疾病的关系

HLA 表达异常即细胞表面 HLA 分子质与量的异常，可参与疾病发生。

（一）HLA－Ⅰ类抗原表达异常

在小鼠及许多人类肿瘤或肿瘤衍生的细胞株均已发现 MHC－Ⅰ类抗原表达缺失或密度降低。若将Ⅰ类基因传染给肿瘤细胞株，则恶变细胞可发生逆转，且浸润性与转移性消失或降低。这可能是由于 MHC－Ⅰ类抗原缺失的肿瘤细胞不能被 Tc 识别并攻击，从而导致肿瘤免疫逃逸（Sneaking through）。

（二）HLA－Ⅱ类抗原表达异常

器官特异性自身免疫疾病的靶细胞可异常表达 HLA－Ⅱ类抗原。诸如 Graves 病患者的甲状腺上皮细胞、原发性胆管肝硬化患者的胆管上皮细胞、Ⅰ型糖尿病患者的胰岛 β 细胞等均可发现 HLA－Ⅱ类抗原异常表达。其机制可能是局部感染诱生 IFN－γ，后者诱导Ⅱ类抗原表达。Ⅱ类抗原是抗原呈递的效应分子，一旦靶细胞异常表达Ⅱ类抗原，就可能以组织特异性方式把自身抗原呈递给自身反应性 T 细胞，从而启动自身免疫反应。激活的自

身反应性 TH 又可能分泌大量 IFN - γ，诱导更多的靶细胞表达Ⅱ类抗原，加重和延续自身免疫反应，最终导致迁延不愈的自身组织损伤。

三、HLA 与排斥反应

移植物存活率很大程度上取决于供者和受者之间 HLA 型别相合的程度。在肾移植中，各 HLA 座配合的重要性依次为 HLA - DR、HLA - B、HLA - A。近年来特别重视 HLA - DP 对移植器官长期存活的意义。在骨髓移植中，为预防严重的移植物抗宿主反应（Graft versus host reaction，GVHR），一般要求从同胞中选择 HLA 全相同的个体作为供者。此外，某些输血反应及习惯性流产也与 HLA 不相容所导致的排斥反应有关。

四、HLA 与法医

由于 HLA 复合体的高度多态性和多基因性，在无关个体间 HLA 基因座位上拥有完全相同的等位基因的机会几乎等于零。再者，个体所拥有的 HLA 等位基因型别一般终身不变，因而特定的等位基因及其以共显性形式表达的产物被看作是伴随个体终生的特异性遗传标记。借助 HLA 基因型和（或）表型检测，可用于法医上的个体识别和鉴定亲子关系。

第七章 细胞因子

1961年，Bloom和Bennett等人在阐述迟发型超敏反应机理的研究中，发现了一些不同于免疫球蛋白的可溶性分子，1969年Dumonde将这些介质称为淋巴因子（Lymphokine，LK）。1977年Cohen将其统一命名为细胞因子。事实上，我们根据前面学习的机体免疫应答的知识，也清楚的知道除了具有抗体和补体系统的参与外，还涉及其他相关因子的参与，那么目前对这一类由机体的免疫细胞和非免疫细胞合成和分泌的小分子多肽类因子，对免疫应答的发生、调节及效应等均起重要的作用，这一类在免疫活性细胞间发生作用的介质称为细胞因子（Cytokine，CK）。细胞因子包括淋巴细胞产生的淋巴因子和单核巨噬细胞产生的单核因子等。随着免疫学、分子生物学、生物化学以及基因工程技术的飞速发展，目前已经发现了200多种人类细胞因子。目前已知白细胞介素（Interleukin，IL）、干扰素（Interferon，IFN）、集落刺激因子（Colony stimulating factor，CSF）、肿瘤坏死因子（Tumor necrosis factor，TNF）、转化生长因子（transforming growth factor，TGF－β）等在免疫系统中起着非常重要的调控作用，在异常情况下也会导致病理反应。研究细胞因子有助于阐明分子水平的免疫调节机制，有助于疾病的预防、诊断和治疗，特别是利用细胞因子治疗肿瘤、感染、造血功能障碍以及自身免疫病等已收到初步疗效，具有非常广阔的应用前景。

第一节 细胞因子概述

一、细胞因子的共同特征

目前已经发现了多种细胞因子，每种细胞因子各有自己独特的特性，但是仍然具有一些共同的属性区别于其他免疫因子。

（一）物理化学特征

细胞因子本质大多为糖蛋白，在内质网中合成后进入高尔基体被糖基化，然后再分泌到细胞外；分子量通常介于8～80 kDa，并且以10～25 kDa之间居多；细胞因子发挥生物学作用时主要以单体存在形式为主，但是也有一些以二聚体、三聚体或者四聚体形式结合相应的受体。

（二）分泌共性

（1）不同类型的细胞可以产生相同的细胞因子，反之多种细胞因子可以由一种细胞产生。

（2）细胞因子的分泌是一个短暂、自限的过程，即具有自我限制性。

（3）静息状态的细胞不能产生和分泌细胞因子，必须经过刺激和活化后才能合成和分泌细胞因子。

（三）作用方式

（1）需与靶细胞上的高亲和力受体特异结合后，才能介导生物学效应。

（2）不与抗原反应，也不具有抗原特异性，其作用没有 MHC 的限制性。

（3）细胞因子大多通过自分泌或者旁分泌的形式作用于相应的细胞。

（4）具有极强的生物学效应，在 pmol/L 水平就能发挥显著的生物学效应。

（5）细胞因子之间通过合成和分泌的相互调节、受体表达的相互调控、生物学效应的相互影响而组成细胞因子网络发挥作用。

二、细胞因子的分类

目前虽然已经鉴定出上百种细胞因子，但是由于其功能复杂，至今尚未有统一的分类方法，可以根据其所作用的靶细胞不同或者根据其功能差别进行分类。

（一）白细胞介素（Interleukin，IL）

1979 年国际国际淋巴因子会议将以前研究发现的淋巴因子、单核因子统一命名为 IL，因为这些因子主要在白细胞之间发挥调节作用，但是现在已明确，IL 大多数由白细胞产生，也有白细胞以外的其他细胞也可以产生。许多 IL 不仅介导白细胞相互作用，还参与其他细胞的相互作用，如：造血干细胞、血管内皮细胞、纤维母细胞、神经细胞、成骨和破骨细胞的相互作用。目前已发现 IL－1，IL－2，IL－3，…，IL－33 等 33 种以上。

（二）集落刺激因子（Colony stimulating factor，CSF）

早在 1966 年发现某些细胞因子可刺激不同的造血干细胞或者不同分化阶段的造血母细胞在半固体培养基中形成不同的细胞集落，后来将这些细胞因子称为集落刺激因子（CSF）。按其作用范围分为：粒细胞 CSF（G－CSF）、巨噬细胞 CSF（M－CSF）、粒细胞和巨噬细胞 CSF（GM－CSF）、多集落刺激因子（Multi－CSF，IL－3）、红细胞生成素（Erythro－poietin，EPO）、血小板生成素（Thrombopoietin，TPO）和 Flt3 配体等。

（三）干扰素（Interferon，IFN）

早在1957年，Issacs等人发现病毒感染的细胞产生一种因子，可抵抗病毒的感染，干扰病毒的复制，因而命名为干扰素。IFN作为最先发现的细胞因子，根据其来源和结构，可以将IFN分为IFN－α、IFN－β和IFN－γ，它们分别由白细胞，纤维细胞和活化T细胞产生。IFN除有抗病毒作用外，还有抗肿瘤，免疫调节，控制细胞增殖及引起发热等作用。

（四）肿瘤坏死因子（Tumor necrosis factor，TNF）

1975年从免疫动物血清中发现的一类能直接造成肿瘤细胞死亡的细胞因子称为TNF，主要分为两种：TNF－α和TNF－β，前者由单核巨噬细胞产生，又称恶液质素（Cachectin），后者由活化的T细胞产生，又称淋巴毒素（lymphotoxin）。TNF的主要功能是杀伤肿瘤细胞，其次还具有参与机体的免疫调节、炎症和发热反应。

（五）趋化因子（Chemokine）

是指对不同细胞具有趋化效应的一类细胞因子。根据其分子N端半胱氨酸的数目及间隔将该因子分为四个亚家族：①C－X－C，主要趋化中性粒细胞，例如IL－8；②C－C，主要趋化单核细胞，例如巨噬细胞炎症蛋白1α；③C－X3－C，仅具有成员Fractalkine；④XC，主要指淋巴细胞趋化因子。

（六）转化生长因子β（Ansforming growth factor－β family，TGF－β）

1978首次在肿瘤细胞中发现一种多肽。能够使小鼠成纤维细胞的表型发生转化，获得在软琼脂上生长的能力，其本质为一种二聚体蛋白，通过二硫键相连。目前该家族成员已经有20多种。

（七）其他细胞因子

主要包括血管内皮细胞生长因子（VEGF）、胰岛素样生长因子（IGF）、成纤维细胞生长因子（FGF）、血小板衍生生长因子（PDGF）、神经生长因子（NGF）和表皮生长因子（EGF）等。

三、细胞因子的结构

不同细胞因子之间在结构上有很大差异，多数细胞因子为小分子多肽，相对分子质量不超过80 kD，多由100个左右的氨基酸组成。不同细胞因子之间无明显的氨基酸序列同源性。多数细胞因子以单体形式存在，少数因子如IL－5、IL－12、M－CSF、TGF－β等以双体形式存在。绝大多数因子带有糖基，糖基多与细胞因子的生物活性无关，可能起延长细胞因子体内半衰期的作用。

四、细胞因子的生物学功能

细胞因子的种类众多，各具功能，但是不同的细胞因子在功能上也具有相似性、协同性和拮抗性。

（一）介导免疫应答过程

免疫应答的过程按照发生的先后顺序，可以划分为识别阶段、应答阶段和效应阶段。在这三个阶段中，不同的细胞因子发挥相同或者对抗性作用对免疫应答进行介导。例如在识别阶段，IFN 可以诱导抗原呈递细胞表达 MHC－Ⅱ分子，促进抗原的呈递作用；而 IL－10 却减少 MHC－Ⅱ分子的表达，抑制抗原呈递过程。与抗体和补体的免疫效应分子相比，细胞因子的免疫效应功能特点是作用强、持续时间短，主要为非抗原特异性作用，并主要参与细胞免疫功能，在抗肿瘤、抗细胞内寄生感染、移植排斥等功能中起重要作用，例如：TNF－α 和 INF－β 可直接造成肿瘤细胞的凋亡。干扰素 α、β、γ 可干扰各种病毒在细胞内的复制，从而防止病毒扩散。LIF 可直接作用于某些髓性白血病细胞，使其分化为单核细胞，丧失恶性增殖特性。还有一些细胞因子通过激活效应细胞而发挥其功能，如 IL－2 和 IL－12 刺激 NK 细胞与 Tc 细胞的杀肿瘤细胞活性。

（二）发挥免疫调节功能

大多数细胞因子都具有促进免疫细胞活化、增殖和分化的作用。增强抗感染和细胞杀伤效应，促进或抑制其他细胞因子和膜表面分子的表达，促进炎症过程，影响细胞代谢等。例如 IL－1、IL－2、IL－4、IL－6、IL－10 等都可以作用 B 细胞，促进 B 细胞活化、增殖和分化，以产生大量的抗体；而 IL－1、IL－2、IL－4、IL－6、IFN－γ 等也可以增强 T 细胞的功能。免疫细胞之间存在错综复杂的调节关系，细胞因子是传递这种调节信号必不可少的信息分子。例如在 T－B 细胞之间，T 细胞产生 IL－2、4、5、6、10、13，干扰素 γ 等细胞因子刺激 B 细胞的分化、增殖和抗体产生；而 B 细胞又可产生 IL－12 调节 TH1 细胞活性和 Tc 细胞活性。在单核巨噬细胞与淋巴细胞之间，前者产生 IL－1、6、8、10，干扰素 α，TNFα 等细胞因子促进或抑制 T、B、NK 细胞功能；而淋巴细胞又产生 IL－2、6、10，干扰素 γ，GM－CSF，巨噬细胞移动抑制因子（MIF）等细胞因子调节单核巨噬细胞的功能。

许多免疫细胞还可通过分泌细胞因子产生调节单核巨噬细胞功能和自身调节功能。例如 T 细胞产生的 IL－2 可刺激 T 细胞的 IL－2 受体表达和进一步的 IL－2 分泌，TH1 细胞通过产生干扰素 γ 抑制 TH2 细胞的细胞因子产

生，而TH2细胞又通过IL－10、IL－4和IL－13抑制TH1细胞的细胞因子产生。通过研究细胞因子的免疫网络调节，可以更好地理解完整的免疫系统调节机制，并且有助于指导细胞因子作为生物应答调节剂（Biologicalcalresponse modifier，BRM）应用于临床治疗免疫性疾病。

（三）调节炎症反应

炎症是机体对外来刺激产生的一种病理反应过程，症状表现为局部的红肿热痛，病理检查可发现有大量炎症细胞，如粒细胞、巨噬细胞的局部浸润和组织坏死，在该过程中，一些细胞因子起到重要的促进作用，如IFN－γ、IL－1、IL－6、IL－8、TNFα等可促进炎症细胞的聚集、活化和炎症介质的释放，可直接刺激发热中枢引起全身发烧，加重炎症症状。在许多炎症性疾病中都可检测到上述细胞因子的水平升高。用某些细胞因子给动物注射，可直接诱导某些炎症现象，这些实验充分证明细胞因子在炎症过程中的重要促进作用。基于上述理论研究成果，目前已开始利用细胞因子抑制剂治疗炎症性疾病，例如利用IL－1的受体拮抗剂（IL－1 receptorant agonist，IL－lra）和抗TNFα抗体治疗败血性休克、类风湿关节炎等，已收到初步疗效。

（四）促进造血功能

主要通过CSF等促进造血干细胞的发育，促进造血功能，从而参与机体生理和病理反应。从多能造血干细胞到成熟免疫细胞的分化发育的每一阶段都需要有细胞因子的参与。目前的研究表明，CSF和IL－3是作用于最早阶段造血干细胞的细胞因子，GM－CSF作用稍晚阶段的髓系造血细胞，G－CSF作用于粒细胞系造血细胞，M－CSF作用于单核系造血细胞，此外Epo作用于红系造血细胞，IL－7作用于淋巴系造血细胞，IL－6、IL－11作用于巨核造血细胞等。由此构成了细胞因子对造血系统的庞大控制网络。某种细胞因子缺陷就可能导致相应血细胞的缺陷，如肾性贫血病人的发病就是肾产生Epo的缺陷所致，正因如此，应用Epo治疗这一疾病收到非常好的效果。目前多种刺激造血的细胞因子已成功地用于临床治疗血液病，有非常好的发展前景。

第二节　细胞因子的受体

随着免疫学研究的不断深入，细胞因子也大量的被发现，在研究中也发现细胞因子是通过与靶细胞表面高亲合力的特异性受体（CKR）结合后才发挥生物学作用的，而且细胞因子发挥作用的范围和效应程度也直接取决于细胞因子受体的分布范围和细胞的分布。因此，对于CKR的研究对进一步

阐明细胞因子的功能以及临床上了解细胞因子与某些疾病的关系具有重要的价值。

一、细胞因子受体的共性

细胞因子受体与其他膜表面受体一样，在结构上均由3个功能区组成，即胞外区（细胞因子结合区）、跨膜区（疏水性氨基酸富有区）和胞内区（信号传导区），其中往往根据胞外区的类型将细胞因子受体分为不同的家族；跨膜区存在一条专一的多肽链与细胞因子结合，其他的多肽链负责传递信号。研究发现，有些细胞因子受体共同使用一条多肽链，如IL-3、IL-5和GM-CSF共同使用同一β链，IL-2、IL-4和IL-7共同使用同一γ链。由于细胞因子在受体水平存在相似性，因而会使用共同的信号传导途径，发挥类似的生物学效应。

二、细胞因子受体超家族

通常根据细胞因子受体胞外区的结构和功能特点，将其分为6个不同的超家族。

（一）造血生长因子受体超家族（Hemopoietin receptor superfamily，HPR）

也称为细胞因子受体超家族或者Ⅰ型细胞因子受体超家族，是包括最多的CKR的超家族。大部分细胞因子如IL-2、3、4、5、6、7、9、EPO、TPO、G-CSF和GM-CSF等的受体均属于这一家族，其典型结构特点是在胞外区N端含有4个保守的半胱氨酸，C端含有Trp-Ser-X-Trp-Ser（WSXWS）组成的五联保守序列，与细胞因子结合功能密切相关。该超家族的功能主要集中在与细胞增殖分化有关。

（二）免疫球蛋白超家族（IgR-F）

该超家族的特点是均在胞外区含有免疫球蛋白的稳定区和可变样区结构，同时还具有其他结构域的组成特征（例如HPR）每个Ig样功能区由100个左右的氨基酸组成，通过二硫键形成稳定的发夹样反平行的β片层折叠结构。IL-1受体、IL-6R、M-CSFR属于这一家族，IL-6受体同时含有Ig超家族和HPR家族两个结构区。

（三）干扰素受体超家族（IFNR-F）

干扰素α和β共用同一个受体，与干扰素γ受体的结构有类似之处，均含一段200个氨基酸的保守序列，其中4个半胱氨酸是共有的。该家族成员主要包括IFN-αR、IFN-βR、IFN-γR、IL-10R、IL-22R和M-CSFR等。

（四）肿瘤坏死因子受体超家族（TNF－F）

主要包括 TNFR、NGFR（神经生长因子受体）、Fas 蛋白、CD27、CD30 和 CD40 等。TNFR 有 TNFR Ⅰ和 TNFR Ⅱ两型，两者均为单链受体，胞外区的重复亚单位有 4 个半胱氨酸，胞内区不同，导致两者的信号途径不同。

（五）趋化性细胞因子受体超家族

该类受体主要含有 7 个疏水性跨膜 α 螺旋结构，形成 3 个短的胞外环和 3 个胞内环；受体胞内区部分与 GTP 结合蛋白相连，从而启动信号转到过程。该类受体主要包括 IL－8R 和巨噬细胞炎症蛋白－1α 链受体等。

（六）蛋白酪氨酸激酶受体超家族

蛋白酪氨酸激酶受体超家族（Proteintyrosine kinase receptor family，PTKR－F）在结构上该类受体具有一个跨膜区，在胞内区有酪氨酸蛋白激酶结构域。主要包括 M－CSFR、SCFR 和 VEGF 等。

第三节　细胞因子与临床疾病的关系

细胞因子在临床上主要是参与疾病的发生、发展过程，其浓度的高低直接影响机体的生理状态，目前我们可以应用细胞因子进行临床治疗。下面主要讲述细胞因子与疾病的关系及如何应用细胞因子进行治疗。

一、细胞因子及其受体的缺陷

包括先天性缺陷和继发性缺陷两种病理情况，例如先天性的性联重症联合免疫缺陷病人（XSCID），表现为体液免疫和细胞免疫的双重缺陷。现已发现这种患者的 IL－2 受体 γ 链缺陷，由此导致 IL－2、IL－4 和 IL－7 的功能障碍，使免疫功能严重受损。细胞因子的继发性缺陷往往发生在感染、肿瘤等疾病以后，如人类免疫缺陷病毒（HIV）感染并破坏 TH 后，可导致 TM 细胞产生的各种细胞因子缺陷，免疫功能全面下降，从而表现出获得性免疫缺陷综合征（AIDS）的一系列症状。

二、细胞因子表达过高

在炎症、自身免疫病、变态反应、休克等疾病时，某些细胞因子的表达量可成百上千倍地增加，例如类风湿关节炎的滑膜液中可发现 IL－1、IL－6、IL－8 水平明显高于正常人，而这些细胞因子均可促进炎症过程，使病情加重。应用细胞因子的抑制剂有可能治疗这类炎症性细胞因子水平升高的疾病。

三、可溶性细胞因子受体水平升高

细胞因子受体是 CKR 的一种特殊形式，它与配体的结合能力弱于其他膜结合型的细胞因子，所以易从细胞膜上脱落下来，存在于体液和血清中，使可溶性细胞因子受体水平升高。这类分子可能结合细胞因子，使其不再与膜表面受体结合，从而削弱了细胞因子的功能。

四、细胞因子与治疗

20 世纪 80 年代中期，已经开始采用基因工程技术生产大量的重组细胞因子用于临床治疗肿瘤、造血障碍、感染等，已收到良好疗效，成为新一代的药物。重组细胞因子做为药物具有很多优越之处，可调节机体的生理过程和提高免疫功能，很低剂量即可发挥作用，因而疗效显著，副作用小，是一种全新的生物制剂，已成为某些疑难病症不可缺少的治疗手段。

第四节 细胞因子分论

迄今为止已发现上百种细胞因子，本教材仅对部分细胞因子进行简要的介绍。

一、白细胞介素

白细胞介素是免疫调节的重要细胞因子，目前已经发现了 33 种 IL，下面选择一些重要的 IL 进行介绍。

（一）IL－1

1972 年 Grey 等人发现单核—巨噬细胞能够分泌一种可以促进小鼠胸腺细胞进行有丝分裂的因子，当时命名为淋巴细胞激活因子（LAF）；1974 年 Wood 发现人外周血中黏附细胞可以分泌一种促进 B 细胞活化的因子，命名为 B 细胞活化因子；以后陆续又称为破骨细胞激活因子等。1979 年，这些物质被统一命名为 IL－1。实际上上述不同的命名也表明 IL－1 具有广泛的生物学功能，IL－1 可以参与炎症反应、促进伤口愈合、刺激造血功能等。

产生 IL－1 的细胞主要是单核—巨噬细胞和树突状细胞，主要是在捕获抗原物质时被激活、产生和分泌 IL－1。IL－1 有两个亚型分子，即 IL－1α 和 IL－1β，这两个亚型分子由不同的基因编码，两者核苷酸序列的同源性为 48%，氨基酸序列的同源性只有 26%。IL－1R 也有两种不同的亚型，Ⅰ型受体广泛分布在多种细胞上，例如 T 细胞、成纤维细胞、内皮细胞等，

只要有微量的 IL－1α 和 IL－1β 就可以激活这些种细胞；Ⅱ型受体属于封闭性受体，主要表达在 B 细胞、单核—巨噬细胞和粒细胞上，它可以结合 IL－1α 和 IL－1β，但是不能传递信号，而且容易从细胞表面脱落，成为可溶性受体，从而干扰细胞因子的正常功能，抑制免疫应答。所以机体存在正常的 IL－1R 的拮抗剂——IL－1ra，主要由单核—巨噬细胞产生，其次中性粒细胞、角质化细胞等也可以产生。IL－1ra 主要和 IL－1R Ⅰ型结合，从而阻碍了 IL－1 的作用，临床上可以用该拮抗剂治疗 IL－1 过多导致的类风湿性关节炎和变态反应性疾病。

（二）IL－2

1976 年，Morgan 发现了一种可以促进 T 细胞增殖和维持 T 细胞体外生长的因子，类似于有丝分裂原的作用，称其为 T 细胞生长因子（T cell growth factor，TCGF），1979 年，被统一命名为 IL－2。1980 年，Rosenberg 等人发现 IL－2 具有诱导 LAK 细胞大量增殖的作用，可以用于治疗晚期肿瘤病人，临床上的大量需要使得 IL－2 的研究进一步深入。

IL－2 主要由 T 细胞产生，属于自分泌和旁分泌生长因子，此外 NK 细胞、LAK 细胞和白血病细胞等也可以产生。人的 IL－2 分子由单个基因编码，编码 133 个氨基酸残基组成的多肽链和 20 个氨基酸残基组成的信号序列；IL－2 含有数目可变的 O－连接的糖基，糖基化程度不同导致分子大小不一。IL－2R 主要由 3 种多肽链参与构成，即 α、β 和 γ，IL－2R 主要分布于 T 细胞、B 细胞、NK 细胞和巨噬细胞表面。IL－2 在体内是主要的参与免疫应答的细胞因子，也参与炎症反应、抗肿瘤效应和移植排斥反应；在体外主要促进 T 细胞的活化、增殖分化，诱导 LAK 细胞扩增和促进 B 细胞增殖产生抗体。

（三）IL－4

1982 年 Howard 发现了一种促使 B 细胞生长的因子。当时命名为 B 细胞生长因子（B cell growth factor. BCGF），以后陆续又命名为 B 细胞刺激因子－1（BSF－1）和 T 细胞生长因子－2（TCGF－2），后国际统一命名为 IL－4。

人的 IL－4 主要由活化的 $CD4^+$ T 细胞产生，其基因位于第 5 号染色体上，由 153 个氨基酸残基组成，包括 4 个外显子和 3 个内含子，是已知细胞因子中最大的一个。IL－4 具有多种生物学活性，它是迄今为止发现的唯一能休止 B 细胞增殖的细胞因子；还可以活化巨噬细胞，增强巨噬细胞表达 MHC－Ⅱ分子；还可以刺激肥大细胞增殖。

（四）IL－5

1980年Takatsu等人在研究B细胞对胸腺依赖性抗原的应答中发现了IL－5，它可以替代T淋巴细胞，所以最开始命名为胸腺替代因子（TRF）；以后陆续发现它还具有促进B细胞分化为IgM和IgG类抗体生成细胞的作用，所以也称为B细胞生长因子Ⅱ（BCGF－Ⅱ），1986年国际统一命名为IL－5。

人的IL－5主要由活化的CD4T细胞和活化的肥大细胞产生的，其编码基因定位于第5号染色体上，编码134个氨基酸残基，有22个氨基酸残基组成的信号肽。IL－5分子通常是两条多肽链以二硫键相连构成。IL－5的主要作用在于可以和IL－2、4协同刺激B细胞增殖分化；诱导T、B细胞表达IL－2受体；诱导嗜酸性粒细胞活化、增殖和分化。

（五）IL－6

许多细胞可以分泌IL－6，主要包括单核—巨噬细胞、T细胞、B细胞、血管内皮细胞和角质细胞等；还有一些因子可以诱导产生IL－6，例如抗原、脂多糖、IL－1和有丝分裂原等。IL－6的命名直至1988年才被证实确定，原来曾被称为B细胞分化因子、肝脏刺激因子和杀伤T细胞分化因子等。

人的IL－6基因位于第7号染色体上，属于糖蛋白，发挥作用时与受体结合，IL－6R存在于许多细胞表面，活化的B细胞、静止的T细胞、NK细胞和肝细胞等，IL－6R由配体结合链（CD126）和信号转导链（gp130）组成。IL－6主要的生物学作用在于促进B细胞分化，研究表明，IL－6是B细胞分化为浆母细胞的最主要的因子；促进T细胞增殖和Tc细胞分化；促进肝脏合成急性期蛋白等。

（六）IL－12

主要来源于B淋巴细胞系，由两个亚基通过二硫键组成的异源二聚体，是目前发现的白细胞介素中唯一的异源二聚体。人IL－12两个亚基的编码基因分别定位于两个染色体上，其编码的产物分别称为p35和p40，前者主要由T细胞、B细胞、NK细胞和单核细胞产生；后者主要由专职的APC和B细胞产生。

IL－12主要作用于CTL和NK细胞，是迄今为止发现的最有效的CTL和NK细胞活性刺激因子，还可以诱导NK细胞和T细胞分泌IFN－γ、TNF－α和GM－CSF等细胞因子。

（七）IL－27

属于新发现的细胞因子，它在组成上主要由IL－12亚基的相关蛋白组

成，表现在生物学作用上是可以和 IL－12 协同，诱导初始的 $CD4^+$ T 细胞产生 IFN－γ。

二、干扰素

干扰素是第一个被发现的细胞因子，也是最早应用于临床的细胞因子。根据其来源、生物学活性和性质，可以分为和 γ 三种。根据其与受体结合的特性，把干扰素划分为 I 型（α 和 β）和 II 型（γ）。

（一） I 型干扰素

1．分类

主要包括 IFN－α 和 IFN－β，IFN－α 主要由单核—巨噬细胞产生；IFN－β 主要由成纤维细胞产生；二者具有相同的受体，受体主要分布在 B 细胞、T 细胞、上皮细胞、内皮细胞和肿瘤细胞等。

2．生物学作用

IFN－α 和 IFN－β 具有广谱的抗病毒作用，主要是诱导细胞产生多种酶来干扰病毒的复制；还可以抵抗寄生虫感染以及抗肿瘤作用。

3．诱生剂

主要包括两类：①强诱生剂：病毒和多核苷酸类，在体内外都可以进行诱生。病毒通常也无需复制，加热或是紫外灭活都可以诱生。②弱诱生剂：不能在培养的细胞中诱生干扰素，只能在一定种类的动物体内的特定细胞中进行诱生，主要包括细胞内寄生的细菌（布鲁氏菌属等）、支原体、立克次氏体和原虫等。

（二） II 型干扰素

II 型干扰素即指 IFN－γ，主要由活化的 T 细胞和 NK 细胞产生。其生物学活性具有高度的种属特异性，主要是起着免疫调节作用，例如激活巨噬细胞并促进其吞噬作用；促进 CTL 的成熟及活性；促进多种细胞表达 MHC－II 和 MHC－I 分子。此外 IFN－γ 还具有抗病毒作用，但是较弱。

II 型诱生剂也有两类：①特异性诱生剂，细菌、病毒等抗原物质；②非特异性诱生剂，主要是指一些 T 细胞的有丝分裂原，例如 PHA、PWM 和 ConA 等。

三、肿瘤坏死因子

1975 年 Carswell 等人发现注射了卡介苗的小鼠在注射了脂多糖之后，血清中会产生一种可以杀伤肿瘤细胞、导致肿瘤细胞发生出血、坏死的因子，称为 TNF。根据其来源与结构不同，可以分为 TNF－α 和 TNF－β。

（一）TNF 及其受体的结构

TNF－α 主要由活化的单核—巨噬细胞产生，T 细胞、B 细胞、NK 细胞等也可以产生。TNF－β 则由活化的 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞产生。人 TNF－α 和 TNF－β 是由 3 个同源亚单位组成的，二者氨基酸同源性为 36%，具有相同的结合受体，即 p55 和 p75 两种，所以二者具有相同的功能。

（二）TNF 的作用

TNF 主要参与机体的防御反应，具有促炎症因子和免疫调节作用；在临床上与机体发生发热、多器官功能衰竭和恶病质等病理过程相关；同时其既有抗肿瘤作用还具有促进肿瘤生长的作用。

四、集落刺激因子

CSF 是一种在体内外强烈刺激骨髓造血干细胞增殖、分化并形成细胞集落的低分子细胞因子，人类的 CSF 主要包括 IL－3、GM－CSF、M－CSF、G－CSF、EPO 和 SCF，下面分别讲述。

（一）IL－3

IL－3 又称为多克隆刺激因子（Multi－CSF），主要由活化的 $CD4^+$ T 细胞和 NK 细胞产生，可以刺激骨髓中多种谱系细胞集落的形成。IL－3R 由 α 和 β 两条链组成，主要分布于骨髓多能干细胞和多种定向祖细胞、肥大细胞及 T 细胞表面。

（二）G－CSF

该细胞因子主要由活化的单核—巨噬细胞、内皮细胞和成纤维细胞产生，是分子量约为 19kDa 的多肽。其受体含有 WSXWS 结构。

（三）GM－CSF

该因子主要由活化的 T 细胞、单核细胞、血管内皮细胞和成纤维细胞等产生，它具有与 IL－3 相似的作用，也含有 WSXWS 结构。

（四）M－CSF

该因子主要由巨噬细胞、内皮细胞和成纤维细胞分泌，是一种二聚体结构。主要作用于已经定型发育为单核细胞的祖细胞。

（五）EPO

EPO 主要由肾小管周围毛细血管的内皮细胞产生，主要作用是使红细胞样前体细胞增殖分化为成熟的红细胞。

（六）SCF

干细胞因子主要由骨髓基质细胞产生，又称为 c－kit 配体或肥大细胞生长因子（Mast cell growth factor，MGF），SCF 以分泌型和跨膜型两种形式存

在，主要存在于多种干细胞和肥大细胞表面，可以刺激干细胞分化成不同谱系的血细胞，还可以刺激肥大细胞增殖。

五、转化生长因子 - β（TGF - β）

TGF - β是在肿瘤生物学研究中发现的一种负向免疫调节因子，本质为一种二硫键相连的二聚体蛋白，体内多种细胞可以合成该因子，例如B细胞、血小板、LPS活化的单核—巨噬细胞和抗原激活的T细胞等。目前该因子还包括活化素、抑制素和骨形成蛋白等，组成了一个TGF - β超家族。该家族的受体存在范围也相当广泛，在正常细胞和肿瘤细胞表面都存在，可以分为Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ型，Ⅲ型是TGF - β的主要结合受体。作为一种细胞因子TGF - β具有非常重要的生理功能，它可以抑制所有淋巴细胞增殖及功能；抑制巨噬细胞的激活、NK细胞的活性；所以它可能是免疫系统关闭的一种信号分子。它还可以促进伤口的愈合；参与胚胎的发育和影响原癌基因的表达。

第八章 免疫应答

第一节 免疫应答概述

一、免疫应答的概念及分类

抗原性物质进入机体后，激发免疫系统的淋巴细胞使之活化、增殖和分化，从而发挥生物学效应的过程称为免疫应答（Immune response，IR）。在高等动物和人体内存在有结构复杂的免疫系统，免疫应答是由多细胞系完成的。免疫应答通常根据介导的主要免疫细胞的不同而进行划分，分为T细胞介导的免疫应答和B细胞介导的免疫应答。这是两种免疫应答的产生都是由多细胞系相互协助完成的，即由单核吞噬细胞、T细胞和B细胞来完成的。这一过程可包括：

（一）免疫细胞对抗原分子的识别过程

该阶段可包括对抗原的摄取、处理加工、抗原的呈递和对抗原的识别，分别由Mφ、T细胞和B细胞完成。

（二）免疫细胞的活化和分化过程

此阶段可包括抗原识别细胞膜受体的交联、膜信号的产生与传递、细胞增殖与分化以及生物活性介质的合成与释放，主要由T和B细胞完成。

（三）效应细胞和效应分子的排异作用

该阶段主要包括效应分子（体液免疫）和效应细胞（细胞免疫）对非已细胞或分子的清除作用（即排异效应）及其对免疫应答的调节作用。在此阶段除抗体和效应T细胞参与外，还必须有免疫增强系统参加才能完成排异和免疫调节作用。

二、免疫应答的基础

（一）免疫应答的场所

免疫应答主要发生在免疫器官中，包括中枢免疫器官和外周免疫器官，免疫细胞之间分子的相互作用也是在这一系统内完成的。

（二）免疫应答的物质支持

免疫应答主要涉及细胞之间分子的相互作用，包括抗体、抗原、细胞因子和 MHC 等，这些分子之间出现异常，将会导致免疫应答出现障碍。

第二节　B 细胞介导的体液免疫应答

由 B 细胞系产生的抗体参与的免疫应答，称为体液免疫应答。B 细胞在应答过程中，随刺激机体的抗原种类不同而发生应答的方式存在差异，主要取决于是胸腺依赖性抗原（TD）还是非胸腺依赖性抗原（TI），前者要依赖于 Th 细胞辅助，后者可以直接发生应答。我们依据免疫应答的发生过程，按顺序讲述体液免疫应答的过程。

一、B 细胞对抗原的识别

（一）TI 抗原的识别

TI 抗原主要特征是不易降解，可以不需要 Th 的参与就能够激活初始状态的 B 细胞的一类抗原，例如细菌多糖、脂多糖等，根据激活 B 细胞的方式不同，还可以进一步划分为 TI-1 和 TI-2 两种抗原。

（1）TI-1 抗原的识别。TI-1 抗原可以刺激成熟或者不成熟的 B 细胞发生应答，当 TI-1 抗原浓度较低时，可以在无需 Th 的辅助下，产生特异性抗体，这一效应要早于对 TD 抗原的应答。但是该类抗原不能够诱导免疫球蛋白的类别转化及记忆性 B 细胞的成熟。TI-1 抗原以 LPS 为代表。

（2）TI-2 抗原的识别。TI-2 抗原主要包括细菌细胞壁和荚膜多糖成分，其仅激活成熟的 B 细胞，其在体内不易降解，所以在体内该类抗原的信号存在时间会延长。在 B 细胞对 TI-2 抗原的应答过程中，细胞因子可以明显增强此类应答，而且可以发生抗体类别转换，所以对于 B1 细胞来讲该类抗原应答需要 T 细胞辅助。

（二）TD 抗原的识别

该抗原识别过程需要 Th 细胞的辅助，识别过程主要包括 BCR 特异性结合抗原，然后摄入胞内，将抗原降解为肽段，形成抗原肽-MHC-Ⅱ类分子复合物，供给抗原特异性 Th 细胞识别。

二、B 细胞的活化、增殖和分化

B 细胞活化需要两个信号和多种细胞因子参与。

（一）B细胞活化的双信号

BCR与特异性抗原表位的结合是第一信号，第二信号主要指CD40和CD40L分子对，CD40主要表达在B细胞、单核细胞和DC细胞上，CD40L主要表达在$CD4^+$T细胞和肥大细胞上。

（二）B细胞的增殖和分化

活化的B细胞在细胞因子的作用下，开始大量增殖，然后分化。

细胞因子对B细胞应答过程中的作用特点：①细胞因子的作用既无抗原特异性，也无MHC限制性。当Th细胞受刺激活化后，它所分泌的细胞因子就可作用于任何抗原特异性的B细胞或任何MHC单倍型（Haplotype）的B细胞。②在B细胞产生免疫应答的不同时期有不同的细胞因子起作用。即B细胞的增殖期和分化期，或Ig的分泌期可有不同的细胞因子在起作用。此外，不同的细胞因子间的组合有的起拮抗作用，有的起协同作用。③细胞因子还可作用于旁路B细胞使之活化。这些B细胞对抗体应答的抗原没有特异性。它们存在于抗原刺激的特异B细胞周围，在抗原活化特异B细胞时，产生细胞因子而被活化并产生非特异抗体。④在刺激B细胞增殖分化。

（三）免疫记忆

用同一抗原再次免疫时，可引起比初次免疫更强的抗体产生，称之为再次免疫应答或免疫记忆。在体液免疫或细胞免疫中均可发生免疫记忆现象。在体液免疫时，对TD抗原的再次应答可表现为抗体滴度明显上升，免疫球蛋白类别可由IgM转换为IgG，而且抗体亲和力增强。免疫记忆的基础是免疫记忆细胞的产生。

（1）免疫记忆细胞。在免疫应答过程中，既能产生B记忆细胞（Bm），也能产生Th记忆细胞（Thm）。免疫记忆现象可以解释为对特异抗原应答的淋巴细胞数量增加的现象。

（2）免疫球蛋白类别的转换。在初次应答时开始出现的抗体是IgM，当达到高峰时才开始出现IgG。IgG高峰虽出现晚，但能维持较长时间。在再次应答时产生IgG的潜伏期明显缩短，水平更高。这种IgM转换为IgG只是Ig分子的类别变化，其识别抗原的特异性仍相同。这种转换可能由产生IgM的细胞变为产生IgG的细胞，而不是由不同亚群的B细胞产生的。

（3）抗体亲和力的变化。在抗体生成过程中，抗体分子的平均亲和力随时间的延长而增加，这种现象称为抗体分子亲和力的成熟。研究证明，在免疫应答过程中，IgG的亲和力可增加数百倍。这种亲和力成熟的现象，被认为是由于存在具有不同亲和力Ig受体的B细胞。初期免疫应答可因存在较大量的游离抗原分子，因此，与低亲和力受体B细胞结合较多。当抗原

量逐渐减少时，则与带有高亲和力受体细胞的结合多于低亲和力受体细胞。因此抗体分子的平均亲和力随时间延长而增高。

（四）抗体的产生

1. 抗体产生的细胞基础

抗体产生需要单核吞噬细胞系、T 细胞系和 B 细胞系三种细胞系参与。抗体的产生涉及抗原与免疫细胞间的相互作用，同时还涉及免疫细胞间的相互作用。

（1）MΦ 的作用。在抗原识别过程中，MΦ 表现为摄取、处理加工、存贮和呈递抗原的作用。其活化后还能分泌多种细胞因子，例如其合成和分泌的 IL－1 有促进 T 和 B 细胞的活化的作用。所以，不能认为 MΦ 只是机械的将抗原决呈递给淋巴细胞，它还具有调节淋巴细胞功能的作用。抗原物质进入体内后，必须先经 MΦ 摄取、加工处理，然后才能呈递给淋巴细胞。MΦ 细胞表面还具有多种受体分子（无抗原识别受体），它主要以吞噬、吞饮和被动吸附等方式捕捉抗原，可摄取任何抗原性物质，属于非特异性摄取。

（2）淋巴细胞的作用。T 和 B 细胞具有抗原识别受体，可以识别抗原。每一细胞克隆可识别一种抗原决定簇，所以这种识别是有特异性的。B 细胞表面抗原受体是膜 Ig 分子，它可以识别天然蛋白质抗原分子表面的构象抗原决定簇（即 B 决定簇），在识别抗原时无 MHC 限制性。T 细胞抗原识别受体为 TCRαβ，它能同时识别经加工处理的序列决定簇肽片段（即 T 决定簇）和自己 MHC 分子，所以有 MHC 限制性。

2. 抗体产生的规律

当第一次用适量抗原给动物免疫，需经一定潜伏期才能在血液中出现抗体，其含量低，且维持时间短，很快下降，称这种现象为初次免疫应答（Primary immune response）。若在抗体下降期再次给以相同抗原免疫，则发现抗体出现的潜伏期较初次应答明显缩短，称为再次免疫应答（Secondary response）或回忆应答（Anamnestic response）。

（1）初次免疫应答。通常可以将抗体产生过程划分为四个阶段：①潜伏期，是指抗原刺激机体后直到血清中能够检出抗体前这一阶段，时间大约从数小时到数周主要取决于抗原的性质、免疫途径、是否使用佐剂以及机体的状态等。②对数期，该期抗体水平呈指数上升。③平台期，该期抗体水平比较稳定，浓度基本不变，时间可以从数天到数周。④下降期，该期抗体的合成减少，又不断的被抗原结合而消耗，所以血清中抗体浓度逐渐下降，时间可以从几天到几周。TI 抗原只能引起初次应答。初次应答主要是 IgM（后期可以产生 IgG），抗原结合力低。

（2）再次免疫应答。该应答过程具有如下特征：潜伏期短，大约为初次应答过程的一半；平台期持续时间长而且到达比较快；下降期持续时间长；诱发再次应答所需的抗原剂量小；产生的抗体主要为 IgG 类，而且为高亲和性抗体。

三、体液免疫应答的效应

免疫应答最终效应是将侵入机体的非己细胞或分子加以清除，即排异效应。但抗体分子本身只具有识别作用，并不具有杀伤或排异作用，因此，体液免疫的最终效应必须借助机体的其他免疫细胞或分子的协同作用才能达到排异的效果。

（一）抗体分子的中和作用

由于抗体分子有特异识别作用，它可与侵入机体的病毒或外毒素分子结合，从而阻断了病毒进入细胞的能力或中和了外毒素分子的毒性作用。从而发挥了抗体分子的保护作用。

（二）抗体分子的调理作用

是指促进吞噬细胞的吞噬作用。单核吞噬细胞系统以及中性粒细胞的表面，都带有 IgG 或 IgM 分子的 Fc 受体或补体分子受体。因此，由抗体与抗原形成的免疫复合物极易被这种具有吞噬功能的免疫细胞所吞噬杀伤或降解并被排除。

（三）补体介导的细胞溶解作用

补体分子可经经典活化途径或旁路活化途径溶解靶细胞。但补体分子在无抗体分子存在时，不能被活化。因此，抗体分子可借补体的作用溶解细胞，被溶解的细胞再经吞噬细胞系统加以排除。

（四）抗体依赖细胞介导的细胞毒性作用（ADCC）

凡是具有 IgGFc 段受体的吞噬细胞或具有杀伤活性的细胞都能参与这种作用。因此参与 ADCC 的细胞可有巨噬细胞、中性粒细胞和杀伤细胞等。

四、体液免疫应答的调节

体液免疫应答不能无限制地发展下去，机体的免疫系统内存在着复杂的调节机制，这是一种对生理功能的保护作用，这种调节主要表现在以下几个方面。

（一）抗体的反馈调节

抗体产生以后，可不断与抗原结合，然后被清除。这是抗原被清除的原因之一，因此可终止免疫应答发生。

（二）免疫抑制细胞作用

免疫系统内存在抑制性T细胞，即Ts细胞，对免疫应答有重要调节作用。当免疫应答发展到一定程度时，即能诱发Ts细胞的作用，其作用机制可能是分泌特异性抑制因子（TSF）和它参与的网络调节。

（三）免疫网络调节（Immune network）

现已证明每一种特异性抗体分子（Ab1）都具有其独特型决定簇，并具有自己抗原性。当抗体分子产生至一定量时，其独特型决定簇可激发其自体产生抗独特型抗体（Ab2），并可连续发展下去。此种抗独特型抗体可促进或抑制免疫应答。已证明独特型决定簇除存在于B细胞的抗原受体外，也存在于Th和Ts细胞的抗原识别受体分子上，因此抗独特型抗体亦可通过Th及Ts细胞的作用发挥免疫调节作用。

第三节 T细胞介导的细胞免疫应答

凡是由免疫细胞发挥效应以清除抗原异物的作用称为细胞免疫。参与的细胞称为免疫效应细胞。目前认为NK细胞、巨噬细胞、杀伤细胞以及由T细胞介导的细胞免疫均属细胞免疫的范畴。前三类免疫细胞在其细胞表面不具有抗原识别受体，因此它们的活化无需经抗原激发即能发挥效应细胞的作用，故可视之为非特异性细胞免疫。而效应T细胞则具有抗原识别受体，必须经抗原激发才能活化，发挥其效应细胞的作用，故称之为特异性细胞免疫。我们重点讲述后者。

一、T细胞免疫应答的分类和抗原特征

由T细胞介导的细胞免疫有两种基本形式，一种是迟发型超敏性T细胞（TDH，$CD4^+$），该细胞和抗原反应后可分泌细胞因子。这些细胞因子再吸引和活化巨噬细胞和其他类型的细胞在反应部位聚集，成为组织慢性炎症的非特异效应细胞。另一种是细胞毒性T细胞（Tc，$CD8^+$），对靶细胞有特异杀伤作用。

引起细胞免疫的抗原多为TD抗原。参与特异细胞免疫的细胞也是由多细胞系完成的，即由抗原呈递细胞（巨噬细胞或树突状细胞）、免疫调节细胞（Th和Ts）以及效应T细胞（TDTH和Tc）等。在无抗原存在的情况下，效应T细胞是以不活化的静息型细胞形式存在。当抗原进入机体后，在抗原呈递细胞或靶细胞的作用下使静息型T细胞活化增殖并分化为效应T细胞。即由T细胞介导的细胞免疫应答也需经过抗原识别（诱导期）、活化

与分化（增殖期）和效应期才能发挥细胞免疫作用。

二、T 细胞活化的信号系统

T 细胞的活化需要双信号，第一信号为 TCR 与抗原肽 - MHC 分子复合物特异性结合；第二信号又称为共刺激信号，由 APC 和 T 细胞表面的黏附分子对的相互作用提供，最重要的是 CD28 分子与 APC 表面的对应配体 B7 -1 和 B7 -2。

三、$CD4^+T$ 细胞介导的细胞免疫

（一）概　述

1942 年 Chase 应用已被抗原致敏的豚鼠的淋巴细胞转移给正常豚鼠，然后用致敏抗原经皮内攻击，可引起皮肤的 DTH 反应，而用致敏豚鼠血清转移不能引起 DTH 反应，首先证明了细胞免疫存在的事实。在无丙种球蛋白患者，即体液免疫缺损者亦可产生 DTH 反应，在人体内也证明了 DTH 反应与抗体无关。这是由 $CD4^+T$ 细胞激发的特异性的细胞免疫应答，它可引起组织的慢性炎症，是以淋巴细胞（主要是 T 细胞）和单核吞噬细胞系细胞浸润为主的渗出性炎症。由于免疫细胞的激活、增殖和分化以及其他炎症细胞的聚集需要较长时间，所以炎症反应发生较迟，持续时间也长，故称此种炎症反应为迟发型超敏反应（Delayed type hypersensitivty，DTH），诱发这种反应的 T 细胞称为迟发型超敏性 T 细胞（TDTH）。

（二）$CD4^+T$ 细胞的活化

$CD4^+T$ 细胞的活化需有抗原呈递细胞参与，主要为巨噬细胞（Mφ），其次表皮内的 Langerhans 细胞和血管内皮细胞亦可发挥抗原呈递细胞的作用。巨噬细胞在 DTH 反应中可发挥两方面作用，首先在诱导期它具有呈递抗原的作用，在效应期非致敏的巨噬细胞在活化的 $CD4^+T$ 细胞释放的细胞因子作用下，可成为 DTH 中重要的炎症细胞。

$CD4^+T$ 细胞活化需有双信号刺激，即其抗原识别受体（TCRαβ）与抗原呈递细胞上的肽 - MHC Ⅱ 分子的复合物结合后，可通过 CD3 复合分子传递第一信号。$CD4^+T$ 细胞上其他辅助分子可与 APC 上相应的配体分子结合，不仅增强了 $CD4^+T$ 细胞与 APC 间的黏附作用，同时可向 $CD4^+T$ 细胞传递协同刺激信号（Costimulatory signal），使之活化并产生多种细胞因子，它们既能促进 $CD4^+T$ 细胞克隆的扩增，又是 DTH 反应的分子基础。如无辅助信号发生，则 $CD4^+T$ 细胞处于不应答（Anergy）状态。

（三）迟发型超敏性炎症的形成

$CD4^+$T细胞经抗原识别、活化和克隆增殖合成和分泌大量各种细胞因子，其中最重要的有IL－2、TNF、LT和IFN－γ等，它们是产生DTH反应的分子基础。在慢性DTH反应中，活化巨噬细胞自身可发生变化，其胞浆和胞浆内细胞器有所增加，其形态类似皮肤上皮细胞，故称为上皮样巨噬细胞，有时它们可融合形成多核巨细胞。在早期DTH反应中以活化$CD4^+$T细胞和活化巨噬细胞浸润为主，这些细胞聚集在活化的血管内皮细胞周围并外渗至局部组内。在晚期慢性DTH反应中以簇状上皮样巨噬细胞和巨细胞为主，并伴有大量纤维母细胞形成组织纤维化以代替原有组织。

四、$CD8^+$（Tc）T细胞介导的细胞免疫

（一）概　述

$CD8^+$T细胞（Tc或CTL细胞）能杀伤表达特异抗原的靶细胞，它在抗病毒感染、急性同种异型移植物排斥和对肿瘤细胞的杀伤作用中是重要的效应细胞。绝大多数Tc细胞表达CD8分子，其抗原识别受体可识别多肽抗原与自身MHCI类分子形成的复合物。这些非己多肽抗原是在靶细胞内经合成加工后与自身MHCI类分子结合并运送到靶细胞表面的。少数Tc细胞表达CD4分子并识别和自身MHCⅡ类分子结合的多肽抗原。

在正常机体中Tc细胞以不活化的静息T细胞的形式存在。因此它也必须经过抗原激活并在T辅助细胞（TH）的协同作用下，才能分化发育为效应杀伤T细胞（Tc）。

（二）杀伤T细胞的活化

杀伤T细胞（Tc）的活化也需双信号，即TCR与靶细胞膜上MHCI类分子与抗原肽分子复合物结合后，可通过CD3复合分子传递第一信号；而Tc细胞上其他辅助分子（Accessory molecules）可与靶细胞上相应的配体分子结合，不仅可增强Tc细胞与靶细胞的黏附作用，同时也向Tc细胞传递协同信号（Costimulatory signal）使之活化。在活化$CD4^+$T细胞分泌的细胞因子作用下使之克隆增殖并分化为效应杀伤T细胞（Tc）。

（三）Tc细胞杀伤靶细胞的机制

杀伤性T细胞对靶细胞作用是抗原特异性的，只杀伤相应靶细胞而对其他细胞无损伤作用。其杀伤机制可能是其分泌的多种细胞毒素所致。

1. 穿孔素蛋白（Perferin）

杀伤T细胞活化后可诱发脱颗粒作用，排出其胞浆颗粒内已合成的一种蛋白——穿孔素，该种蛋白在颗粒内是单体，当与胞外高浓度Ca^{2+}接触

后即发生聚合，这种聚合多发生在靶细胞膜的脂质层，并形成离子透过通道，因之大量离子和水分可进入细胞造成细胞溶解。这种细胞溶解作用类似于补体的膜攻击复合物的作用，并且穿孔蛋白的结构也与 C9 有同源性。此外，颗粒中的其他成分如丝氨酸酯酶和蛋白聚糖也有损伤细胞的作用。

2. 细胞毒素

杀伤性 T 细胞可分泌一种蛋白质毒素，类似于淋巴毒素。这种细胞毒素可活化靶细胞内的 DNA 降解酶，导致靶细胞核 DNA 的裂解，引起靶细胞的凋亡。由于 Tc 细胞分泌的细胞毒素引起的靶细胞死亡并不出现由于渗透压增高引起的细胞膨胀导致的细胞溶解。而穿孔素蛋白杀伤靶细胞也不引起 DNA 裂解导致的细胞程序性死亡。这两种杀伤机制在 Tc 的杀伤作用中可能是互补的。

第二篇　临床免疫学

临床免疫学部分主要涉及医学免疫学中经常遇到的问题，侧重于个体的临床诊断与治疗，主要包括超敏反应、肿瘤免疫、移植免疫和免疫缺陷等内容。

第九章　超敏反应

当机体被某抗原致敏后，再次接触相同抗原时则免疫应答被增强。在摄入的抗原较大或机体的免疫处于高应答状态时，则因免疫应答而导致组织损伤，称为超敏反应（Hypersensitivity）。超敏反应是一类由抗原（外源性或内源性）与抗体或致敏淋巴细胞发生特异性反应所致的病理过程。该术语的提出是 Von Priquet 在 1906 年时首次引入免疫学的，但是当时称为变态反应（Ellergy），现在也称为过敏反应（Anapfylactic reaction），该反应本质是机体在受到刺激的时候发生的一类特殊的免疫应答，这类应答引起组织损伤和免疫功能的紊乱。属于异常或病理性免疫应答，故也具有特异性和记忆性。超敏反应具有个体的特征，而且是机体在第二次接触过敏原时才能发生。引起超敏反应的抗原物质称为变应原（Allergen），例如花粉，动物皮屑，昆虫毒液以及各类食物等。变应原可以是完全抗原，如微生物、异种动物血清等；也可是半抗原，如药物、化学制剂等；还可以是自身抗原如变性的自身组织细胞等。易发生超敏反应的个体，多有家族史，临床上称其为过敏体质。1963 年 Coombs 和 Gell 根据反应发生的速度、发病机制和临床特征将超敏反应分为 4 型，并在 1975 年又进行了修改，形成现在的Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ型（如表 9－1）。Ⅰ～Ⅲ型由抗体介导，可经血清被动转移。而Ⅳ型由 T 细胞介导，可经细胞被动转移，反应发生较慢，故称迟发型超敏反应。

表 9－1　超敏反应的分型与特征

类型	其他名称	参与的主要成分	导致的疾病
Ⅰ	速发型超敏反应	IgE	过敏性哮喘、过敏性鼻炎等
Ⅱ	细胞毒型	IgG IgM IgA	输血反应、甲状腺功能亢进
Ⅲ	免疫复合物型	IgG IgM IgA	补体血清病
Ⅳ	迟发型超敏反应	致敏 T 淋巴细胞	接触性皮炎、传染性变态反应

第一节　Ⅰ型超敏反应

1921 年 Prausnitz 将其好友 Kustner 对鱼过敏的血清注入自己前臂皮内，一定时间后将鱼提取液注入相同位置，结果注射局部很快出现红晕和风团反

应，他们将引起此反应的血清中的因子称为反应素（Reagin）。这就是著名的P-K试验，动物被动皮肤过敏试验（Passive cutaneous anaphylaxis，PCA）其原理就是P-K试验。目前临床上用于诊断变态反应的皮肤试验也由此衍生而来。1966年ishizaka发现并证明IgE抗体是介导Ⅰ型超敏反应的主要抗体，至此历经45年之久终于揭开了反应素的化学本质。之后Ⅰ型超敏反应的发病机制、特异的体外诊断方法均获得蓬勃发展。

一、概念及其主要特征

Ⅰ型超敏反应在四型超敏反应中发生速度最快，通常在已免疫的机体再次接触同样变应原刺激后数分钟内就能发生，故又称速发型超敏反应（Immediate hypersensitivity）或变态反应。其主要特点在于机体产生的特异性IgE抗体结合在肥大细胞和血嗜碱粒细胞膜受体上，导致效应细胞释放生物活性介质，这些介质参与机体的反应，该反应发生速度快，消退也快，；导致机体的生理功能紊乱。Ⅰ型超敏反应发病有明显的个体差异，如给豚鼠注射马血清，初次注射时并不引起严重反应；然而在间隔2~3周后再次静脉内注射相同抗原时，在数秒至几分钟内可使动物发生呼吸困难，休克以至死亡。临床常见的过敏性哮喘、青霉素引起的过敏性休克等均属Ⅰ型超敏反应。

二、发病机制

（一）变应原

凡经吸入或食入等途径进入体内后能引起IgE类抗体产生并导致超敏反应出现的抗原物质称为变应原（allergen）。多数天然变应原的分子量为10.000~70.000 Da。相对分子质量过大不能有效地穿过呼吸道和消化道黏膜，而分子量过小难以将肥大细胞和嗜碱性粒细胞膜上两个相邻近IgE抗体及其受体桥联起来，因而不能触发介质的释放。下面介绍几种常见的引起Ⅰ型超敏反应的重要变应原。

1. 吸入性变应原广泛存在于大自然界中，预防接触吸入性变应原较难

（1）种类繁多的植物花粉。许多花粉可以引起Ⅰ型超敏反应，每年春夏之交是鲜花盛开的季节，因此发病率升高。花粉产量大，授粉期长，质轻粒小，致敏花粉多属风媒花粉。花粉的播散具有区域性和季节性特点，例如豚草（Ragweed）花粉为强变应原，主要是见于欧美；我国北方地区秋季主要致敏花粉是野生植物蒿属花粉。

（2）真菌。真菌在自然界中的分布极广，其孢子和菌丝等是重要的变应原。

(3) 螨。螨属节肢动物门蜘蛛纲，屋尘螨、粉尘螨和土内欧螨具有相同的抗原性均可引起变态反应。每 0.1 g 被褥尘中含屋尘螨可高达 3 000 个。

(4) 上皮变应原。家养狗、猫和兔等的脱落上皮、毛、唾液、尿液等已成为人类尤为儿童的重要变应原。

(5) 屋尘。室内屋尘引起某些支气管哮喘和变应性鼻炎的出现，其成分较为复杂，包含家庭生活起居中多种生活垃圾、霉菌还可能含有上皮脱屑、毛、脱落的人上皮、螨、昆虫和蟑螂的碎片及其排泄物、真菌、细菌、花粉、工业品、丝、棉、麻、尼龙、化纤等。

(6) 羽毛。衣服、被褥、枕芯、垫料、地毯、壁毯等中的鸡鸭鹅鸽等羽毛也是变应原。有人报道，农牧民、兽医、饲养员、屠宰人员、毛皮革制造业者和科研人员对动物皮毛和排泄物的过敏较常见。

(7) 昆虫变应原。飘散在空气中的飞蛾、蜜蜂、甲虫、蟑螂、蚊蝇的鳞片、毫毛，脱屑和排泄物吸入取后可引起致敏，养蚕工人可对蛾毛、蛾尿、蚕丝和蚕尿过敏。

(8) 植物变应原。除上述豚草和蒿属花粉外，植物纤维如木棉和除虫菊等吸入后可引起致敏。烟草的致敏作用国内外均有报道。

2. 食物变应原

常见的过敏性食物有蛋白质含量较高的牛奶和鸡蛋；海产类食物，如无鳞鱼、海蟹、虾、海贝等；蛋白质含量高且不易消化的食物如蛤蟆类、鱿鱼；含有真菌食物，如蘑菇等。食物引起过敏在小孩中比较敏感，例如有的小孩对牛奶过敏，对虾、蟹过敏。甚至有的成年人在进食鱼、虾、蛋、乳等食物后，亦会发生恶心、呕吐、腹泻等症状。现如今因保鲜食品、冷藏食品及人工合成饮料日益增多，使得食物添加剂（染料、香料等）、防腐剂、保鲜剂和调味剂就成了一类新的重要变应原。

此外，许多常用药物也可引起Ⅰ型超敏反应，药物可经口服、注射和吸入等途径进入体内，少数病人用药后出现局部或全身药物过敏反应。临床上以抗生素中的青霉素引起的最多，因此在给病人注射青霉素之前，必须进行皮试过敏试验。青霉素不具有抗原性，其降解产物青霉噻唑和青霉烯酸为半抗原，能与人体内蛋白质结合而发挥完全抗原的作用。因此医生在用青霉素治疗中必须十分慎重，否则有生命危险。

(二) 抗 体

引起Ⅰ型超敏反应的抗体主要是 IgE，该抗体主要由鼻咽部、扁桃体、支气管和胃肠道黏膜等处固有层的浆细胞产生，然后与肥大细胞和嗜碱性粒细胞结合，因此，该抗体也称为亲细胞性抗体。

（三）IgE 合成的调节及其受体

1. IgE 合成的调节

IgE 是免疫球蛋白同种型之一，是 I 型超敏反应的关键介导抗体。IgE 在血清中的水平可用放射免疫方法测定，也可以用被动连续过敏反应法测定。在正常人的血清中 IgE 含量很低，我国人群中 IgE 水平 200 ~ 900 ng/mL 血清。超敏反应的病人 IgE 超过正常人。但不同个体内 IgE 水平有很大差异，不同病人的不同超敏反应病也有所不同。如特应性皮炎的 IgE 水平特别高于其他几种过敏症患者。有报道称中国健康人的 IgE 平均水平 361 IU/mL（866 ng/mLIU），哮喘病人 1 050 IU/mL（2 520 ng/mL），特应性皮炎的病人 IgE 水平为 900 IU/mL（2 160 nx/mL），血清过敏症病人 IgE 水平为 3 682 IU/mL（8 836. 8 ng/mL）。变应原通常经过黏膜进人机体，产生 IgE。IgE 通过血清转入正常人体可以增加对变应原的过敏反应。IgE 的产生还受到 Th 细胞的辅助作用和 Ts 的抑制作用的调控。IgE 合成受 4 个因素调节，现分述如下。

（1）遗传因素。常可见在一个家庭成员中高 IgE 水平与特应症（Atopy）发生之间的相关性，特应症是指一类与遗传密切相关的速发型变态反应，也就是过敏性素质（体质）或对环境中常见抗原产生 IgE 抗体应答的倾向性，对变态反应性疾病的易感性。与正常人相比，他样血清 IgE 明显升高，肥大细胞数较多而且胞膜上 IgE 受体也较多。家系调查表明，特应症由常染色体显性遗传，但同一家系中不同成员所患的特应症可以不同。他们产生高 IgE 抗体的能力可能与组织相容性复合体Ⅱ类（MHC Class Ⅱ）中的某些特殊位点有关。有报道反指出，屋尘螨特异性 $CD4^+$ T 细胞克隆对螨的应答受 HLA - DRAB1 和 HLA - DRAB3 基因产物的限制，说明这些基因产物在 T 细胞识别变应原中具有重要的功能。

（2）接触变应原的机会。接触变应原的机会是特异性 IgE 抗体水平高低的重要决定因素。一般而言，反复接触某一些应原才会引起对该变应原的特应性反应。有些过敏性鼻炎或哮喘患者乔迁异地后，由于地理环境的改变，避开了当地固有的植物花粉而使病情减轻。食物引起的过敏反应在婴幼儿较多见，这与婴幼儿胃肠黏膜屏障尚未成熟而使食物蛋白质等易进入体内有关。昆虫可以螯刺、吸入、接触和食入等方式而使人致敏，其中对昆虫毒液的过敏最具有重要性，如蜜蜂、黄蜂在其尾部有毒囊，内含毒液。当蜂类螯刺人体时，毒囊从尾部脱落，排毒管刺入皮肤并将毒液注人人体内。蜂毒液中引起过敏反应的蛋白质毒素主要是磷脂酶 A2。而蚊、蚤、蚂蚁、臭虫等通过其唾液管将吃得开液排入人体内而引起荨麻疹、红斑等局部皮肤过敏性反应。

（3）抗原的性质。以相同途径进入人体的抗原，有的引起强速发型超敏反应，有的则不能，虽其确切原因尚不明，但与抗原本身的特性，特别是被T细胞识别的表位的特性有关。有些药物如青霉素，能引起强烈IgE抗体应答。这些药物与蛋白质结合，形成半抗原（药物）—载体（蛋白质）结合物，而成为新抗原（Neoantigens）。

有些蛋白质抗原与有利于IgE抗体合成的具有佐剂作用的物质天然共存，如在同一寄生虫体内可能同时存在抗原和佐剂。又如在接触环境中变应原时有呼吸道病毒感染则对总IgE和特异性IgE抗体的产生起佐剂作用。最近报道，浮游于空气中排放的柴油废气颗粒（Diesel exhaust particulates，DEP）直径小于1 μm，在城市空气中的浓度可高达2～500 $\mu g/m^2$，DEP对动物产生IgE起佐剂作用。近30年来变态反应性鼻炎和哮喘发病率的增加与空气污染和柴油废气排放增加相平行。

第二次接触抗原的途径与速发型反应的类型可能有关，全身性过敏反应一般与抗原直接进入血循环有关，如昆虫毒液或药物所致的超敏反应；外源性哮喘和花粉症常由于吸入抗原所致；而荨麻疹是食物变态反应的常见表现。

（4）TH细胞和细胞因子。IgE抗体的类别转换（Isotype switching）取决于TH细胞，说明T细胞非依赖性抗原不能诱发IgE抗体的产生。Okumur和Tada早就证明，B细胞产生IgE抗体需T细胞辅助，但近年由于有了T细胞克隆、重组细胞因子和抗细胞因子抗体故可详细剖析T细胞所起的精确作用。已知鼠和人的TH细胞均可根据分泌细胞因子种类的不同而分成为TH1和TH2两个亚群，TH1细胞分泌IIL－2、IFN－γ和淋巴毒素，但不分泌IL－4、IL－5和IL－6；相反，TH2细胞分泌IL－4、IL－5、IL－6和IL－10，但不分泌IL－2、IFN－γ和淋巴毒素。TH1细胞分泌的细胞因子主要的生物学作用是增强免疫系统的细胞毒活性和介导迟发超敏反应，而TH2细胞分泌的细胞因子主要在抗体形成及变态反应过程中起作用。TH1和TH2之间通过细胞因子而互相调节。1986年以来在鼠和人的体内、体外研究表明，IL－4促进IgE合成，而IFN－γ抑制IL－4所诱导的IgE合成，说明TH1和TH2细胞均调控IgE的合成。IL－4除诱导人和鼠合成IgE外，还能诱导人IgG4和鼠IgG1抗体合成。变应原致敏B细胞合成IgE需IL－4的机制之一是IL－4为B细胞提供了活化信号，因而B细胞由产生IgM转换成产生IgE抗体，所以IL－4是个Ig类转换因子。特应患者可能有较多产生IL－4的变应原特异性T细胞并能分泌较多IL－4。IL－4能在mRNA水平上阻断单核细胞、CD_3^+、$CD4^+$或$CD8^+$T细胞由植物凝集素（Lectin）所诱导的

IFN－γ 产生，也能抑制 IL－1、TFN－α 和 PGE2 的产生，而这些细胞因子均能抑制 IgE 合成。因此 IL－4 和 IFN－γ 量的比例和相互制约的平衡调节可能是 IgE 合成的重要决定因素。IL－6 也能增加 IgE 合成，IL－6 可能为增加 IgE 合成提供了一类非特异性信号。IL－3 和 IL－5 对 IL－4 所诱导的 IgE 合成也有协同作用。

NK 细胞刺激因子也即 IL－12 是 1989 年新发现的细胞因子，是至今发现的 ILs 中唯一由 B 细胞产生的 IL。IL－12 是已知的对人体 T 细胞和 NK 细胞的增殖、细胞毒性和淋巴因子的产生有直接调节作用的唯一细胞因子，如诱导 T 细胞和 NK 细胞产生 IFN－γ。IL－12 是 IgE 抗体合成的强抑制剂，其作用机制可能是：增加 IFN－γ 合成而抑制 IgE 合成；通过非 IFN－γ 依赖的机制使 IgE 合成下降；Ig 类别转换因子样作用，可下调 IgE 合成。IL－12 很小的剂量就能显示很强的生物学效应，在Ⅰ型超敏反应性疾病的防治中似具有潜在的应用前景。

肥大细胞与 TH2 细胞相似，肥大细胞主要分布在大多数组织内的血管周围，也能分泌 IL－4 和 IL－5 而不分泌 IFN－γ 和 IL－2。腹腔和皮肤来源的肥大细胞内颗粒的大小和数量都有不同，而且药理学特性方面也有差别。能影响肥大细胞数目、活化状态及组胺等介质释放的细胞因子使变态反应加重。这些因子包括 GM－CSF、IL－3、IL－4、IL－9 和组胺释放的细胞因子（Histamine ueleasing factors，HRFs）。HRFs 由多种细胞产生，其主要作用是使嗜碱性粒细胞脱颗粒和释放组织胺。

2. IgE Fc 受体

IgE 重链 Fc 段受体（FCεR）有两类，第一类称高亲和力 IgE 受体，以 FCεRⅠ表示；第二类为低亲和力 IgE 受体，以 FCεRⅡ表示。它们均能与 IgE 结合，但它们的表达细胞、分子结构等均不同。

（1）FCεRⅠ。介导Ⅰ型超敏反应的是与 FcεRⅠ受体密切相关的。IgE 或者 IgE 的聚合体都可以与 FcεRⅠ结合导致组织胺的释放。FCεRⅠ只存在于肥大细胞和嗜碱性粒细胞膜上，这两种细胞在Ⅰ型超敏反应中起重要作用。当变应原或抗 FCεRⅠ抗体使这些细胞膜上相邻的两个 FCεRⅠ桥联起来时则引起一系列生化反应，继而释放出诸如组胺等各种与变态反应和炎症有关的生物活性介质。IgE 与受体结合的同时使细胞增加了对 Ca^{2+} 离子的吸收，因此 Ca^{2+} 对组胺的释放是必需的。在细胞悬液中加人 EDTA 能完全抑制抗原诱发的组胺释放。最近有报道，人皮肤中的郎格罕细胞上也表达有 FCεRⅠ／。啮齿动物的 IgE 不仅能与啮齿动物肥大细胞上的 FcεR 结合，而且能与人的嗜碱性粒细胞和肥大细胞结合。已经发现鼠的 IgE 和人的 IgE 能

结合到人的嗜碱性粒细胞上相同的 FcεR。而且也发现鼠的 IgE 抗 - DNP 单抗能致敏正常人的嗜碱性粒细胞和肥大细胞。可能鼠 IgE 对人的 FcεR 的亲和力比人的 IgE 稍弱一些。同样 IgE 在大鼠和小鼠之间也能相互结合。在大鼠上的 IgE 受体是由四肽链组成，一条 α，一条 β 和两条 γ 链。链相对分子质量为 4.5×10^4，分子上有 IgE 连结区与 IgE 亲和力很强。因此，链可以单价与 IgE 结合。β 链和 γ 链相对分子质量分别为 3.3×10^4 和 9.0×10^3。这两条链可能不暴露在细胞表面。

（2）FCεRⅡ/CD23。还有 FcεRⅡ受体，它分布在单核细胞，巨噬细胞和嗜酸性细胞上每个细胞上只有 $10^3\sim10^9$，与单体 IgE 的亲和力较低（$10^5\sim10^8$ L/mol），而且是单分子肽链。它与 FcεRⅠ是完全不同的两种分子。活化 T 细胞上也有 FCεRⅡ/CD23。1986 年 Kikutani 在人、1988 和 1989 年 Waldschmidt 等在小鼠用单克隆抗体证明。sIgM + 和 sIgD + 的 B 细胞 90% 以上表达 FCεRⅡ，而 sIgG + 和 sIgA + 的 B 细胞则不表达 FCεRⅡ。正常人外周血 B 细胞大多为 FCεRⅡ阳性，过敏病人的 B 细胞和单核细胞表达 FCεRⅡ大量增加。1987 年有两个研究组均证实，FCεRⅡ就是人 B 细胞表面分化抗原 CD23，是 B 细胞早期的表面标志，故多以 FCεRⅡ/CD23 表示之。IL - 4 能增加上述细胞 FCεRⅡ/CD23 的表达。

FCεRⅡ/CD23 不稳定，经蛋白水解酶作用可在体内行裂解成大小不等的片段，其中位于羧基端能与 IgE 结合的 25KD 的片段较稳定，称为 IgE 结合因子（IgE - BF）或可溶性 CD23（sCD23）。当 IgE 与 FCεRⅡ/CD23 结合后能防止 FCεRⅡ降解成 sCD23，IFN - γ、- α 和前列腺素 E2 能抑制 IL - 4 所诱导的 CD23 表达和 sCD23 的释放。FCεRⅡ/CD23 和 IgE - BF/sCD23 对 IgE 合成具有正调节作用。IgE - BF/sCD23 能诱导正常人外周血单核细胞合成 IgE。sCD23 能诱导肥大细胞释放组胺加重临床症状。

（四）参与Ⅰ型超敏反应的生物活性介质

机体在接受变应原刺激后，有些个体在体内能产生相当量的 IgE 类抗体，IgE 具有亲细胞的特性，同时肥大细胞和嗜碱性粒细胞膜表面有大量 IgEFc 受体，IgE 能与肥大细胞和嗜碱性粒细胞上的 IgE 的 Fc 受体（FcεR）结合。每个肥大细胞表 FcεRⅠ的数目为 4 万 ~ 10 万。呼吸道和胃肠道黏膜及特应性反应的局部皮肤内均有大量肥大细胞。IgE 抗体与 FcεRⅠ高亲和力地结合，这时如不再接触相应的变应原则不会出现任何临床症状。但当相同变应原再次入侵时，变应原与上述细胞表面的 IgE 特异地结合，所形成的变应原 - IgE 复合物能激活肥大细胞和嗜碱性粒细胞使之脱颗粒。从被排出的颗粒中和细胞内释放出一系列生物活性介质，如组胺、白三烯、激肽等。释

放的介质立即直接作用五靶细胞、靶组织、靶器官，引起一些速发的临床症状，毛细血管扩张、血管壁通远性增加，平滑肌收缩和腺性体分泌增多，在临床上可表现为等麻疹、休克、哮喘、腹痛和腹泻等多种症状。

肥大细胞等所释放的介质按其作用方式可归成三类，即：趋化剂，包括中性粒细胞趋化因子（Neutrophil chemotactic factor，NCF）、过敏性嗜酸性粒细胞趋化因子（Eosinophil chemotactic factor，ECF－A）和 LTB4，其作用是将中性粒细胞等细胞吸引到肥大细胞活化部位；炎性活化剂，包括组胺、血小板活化因子、类胰蛋白酶和激肽原酶，它们引起血管舒张、水肿和组织损伤；致痉剂，包括组胺、PGD2、LTC4 和 LTD4，它们直接引起支气管平滑肌痉挛。

组胺是肥大细胞和嗜碱性粒细胞颗粒中的小分子胺类，具有多种生物活性，如促使小血管和毛细血管扩张，通透性增加；刺激平滑肌收缩；促进黏膜腺体分泌增加等。组胺与靶细胞上的受体结合，组胺受体有 H1、H2 和 H3 三种，很多种类的细胞均有组胺受体。前列腺素、LTs 和 PAF 这三类新合成的介质均为脂类介质。PGD2 与平滑肌细胞上的受体结合，是血管扩张剂和支气管收缩剂。激肽原酶可促使血浆中激肽原转变为缓激肽和其他激肽类物质，使平滑肌收缩和血管扩张，还可增加局部毛细血管通透性，引起疼痛等。嗜酸性粒细胞趋化因子可吸引嗜酸性粒细胞向局部聚集，活化的嗜酸性粒细胞参与迟发相反应，并对 I 型超敏反应具有重要调节作用。

最近有人把细胞因子也列入新合成的介质之中，原因是培养的肥大细胞能产生肿瘤坏死因子（TNF）、IL－1、IL－4、IL－5、IL－6 和各种集落刺激因子（Colony－stimulating factors，CSFs）如 GM－CSF 和 IL－3。诱发肥大细胞与嗜碱性粒细胞活化的因素首先是 IgE。IgE 与细胞上的 FcεR I 结合经过交叉连结形成环状桥，或者 IgE 与抗原结成环状桥，或者两个 IgE 分子之间由植物凝集素连成桥；再由抗 IgE 独特簇的抗体连成桥。由抗 FcεR I 抗体与两个 FcεR I 结合形成环状桥；这些结构都能使肥大细胞活化，吸入 Ca^{2+} 离子导致细胞脱粒（Degranulation）作用。肥大细胞受 IgE－介导而活化时释放的细胞因子主要与迟缓相反应有关。速发型超敏反应的迟缓相（Late phaseue action）与迟发型超敏反应的炎症相（Inflammatory phase）之间的主要区别是细胞因子的来源。前者经 IgE 传递和由肥大细胞介导，而后者由 T 细胞传递，T 细胞直接分泌有关的细胞因子。

除抗原与结合在肥大细胞、嗜碱性粒细胞上的 IgE 抗体结合使 FcεR I 桥联而引起脱颗粒释放介质的机制外，尚有其他因素也能引起脱颗粒和释放出介质。如过敏毒素 C3a 和 C5a、蜂毒素（Mellitin）以及合成的 ACTH，可

待因和吗啡等均能直接引起肥大细胞脱颗粒。植物凝集素（Lectin）通过与IgE分子上的受体结合使IgE交联而引起脱颗粒。

三、临床常见的Ⅰ型超敏反应性疾病

Ⅰ型超敏反应性疾病涉及皮肤、呼吸道、耳鼻咽喉、眼、消化道、血液系统、神经系统和循环系统等。本书就花粉症、支气管哮喘、特应性皮炎和食物过敏作简要介绍。

（一）花粉症

即枯草热，也称变态反应性鼻炎，主要因吸入植物花粉致敏引起，因此具有显季节性和地区性特点。临床表现主要在鼻、眼部和呼吸道，患者表现为分泌物增加、流涕、喷嚏等。根据症状及花粉浸液皮肤试验结果诊断并不困难。抗组胺药能显著控制临床症状，也可在鼻、眼局部应用类固醇和肥大细胞稳定剂如色甘酸二钠等药物。花粉季节前脱敏治疗常能收到较好效果。

（二）支气管哮喘

支气管哮喘属于呼吸道过敏反应，是变应原或其他因素引起的支气管高反应性下出现的广泛而可逆的气道狭窄性疾病好发于儿童和青壮年，有典型的家族史。我国北京地区的发病率约5%，是儿科和内科的重要呼吸疾病。病情迁延、病程较长、频敏发作，并发症较多。多为吸入或食入变应原后发生的支气管平滑肌痉挛、器官变应性炎症，常出现胸闷、哮喘、呼吸困难等症状。美国每年因哮喘死亡2 000～3 000例，且有增加趋势。引起哮喘的因素十分广泛复杂，吸入性和食入性变应原以及感染特别是呼吸道病毒感染均为哮喘发生的重要原因。其主要病理变化是小支气管平滑肌挛缩、毛细血管扩张，通透性增加、小支气管黏膜水肿、黏膜腺体分泌增加、粘液栓形成，因而气道变窄，患者感觉胸闷、呼吸困难。这些病理改变和症状主要是LTs和组胺作用的结果。支气管哮喘的分型、鉴别诊断、防治和预后方面虽已取得很大进展，近年来研究证明，过敏性哮喘的迟发相反应阶段与嗜酸性粒细胞释放的碱性蛋白、神经毒素和过氧化酶等有关。

（三）特应性皮炎

血管性水肿，湿疹样病变都是常见速发型超敏反应，如干草热，特应性皮炎等，可以由尘埃（包括屋内的尘螨）、食物、药物等引起。特应性皮炎也称异位皮炎，是常见的皮肤变态反应性疾病，约70%病人有阳性家族史。大多病人血清IgE水平升高。病变以皮疹为主，特点是剧烈瘙痒。急性期的病理改变是细胞间质水肿和上皮内疱疹形成，真皮浅层可有水肿，血管扩张和淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等浸润。亚急性期表皮内有小疱和角化现象，有

大量淋巴细胞浸润；慢性特应性皮炎主要表现表皮角化和增生、皮肤增厚、苔癣化、血管周围大量炎性细胞浸润，常有色素沉着。皮疹好发于肘窝、腘窝、颈部和面部。此病可分婴儿型、儿童型和成人型。婴儿的特应性皮炎也称婴儿湿疹，多在生后 4 ~6 月发病，病变有渗出型和干燥型两种。成人型多在青年期发病，表现为泛发的融合的扁平丘疹，病损皮肤增厚和苔癣化。特应性皮炎对理化等刺激异常敏感。大多病人间歇发作，冬季易复发。诊断主要依据典型的皮肤表现和阳性家族史。

（四）食物变态反应

食物变态反应属于消化道过敏反应，食物变态反应一般现于进食后数分钟至 1 h。少数人进食鱼、虾、蛋、牛奶及服用某些药物后，可引起恶心、呕吐、腹泻、腹痛等症状。引起幼儿过敏的常见食物为鸡蛋、牛奶、鱼和坚果果仁等。易患食物过敏症者其胃肠道分泌型 IgA 含量明显减少，并多伴有蛋白水解酶缺乏。因此，患者肠黏膜防御作用减弱，肠壁易受损伤，同时肠内某些食物蛋白尚未完全分解即通过黏膜被吸收，从而作为过敏原诱发消化道超敏反应。

在临床上对特应性超敏反应的皮肤试验，是把一些抗原引入皮肤，以导致释放相应的介质，增加血管的通透性以及局部肿胀和痒等症状，如用玻璃粉作为变应原刺激皮肤（注射），试验夏季干草热的病人，20 min 就可看到清晰的反应。也可以尘螨对特应性皮炎的病人作皮试。特应性皮炎在皮试后 24 h 和皮试后立即进行组织检查发现，皮试后最快的组织反应是血管的周围出现嗜中性粒细胞浸润，24 h 后出现大量嗜碱性粒细胞浸润。

四、Ⅰ型超敏反应性疾病的发病率

欧洲人群中Ⅰ型超敏反应的发病率为 25% ~35%，瑞典为 30% ~40%。我国北京地区的发病率高达 37.7%。Ⅰ型超敏反应的重要性不仅在于它是一类常见病，多发病，还在于它涉及临床各个学科，特别是儿科、内科、耳鼻咽喉科和皮肤科。随着工农畜牧业的发展，三废的出现，生活环境和生活方式的改变，新的变应原不断出现，石油、橡胶、化纤、塑料、人造革制品、药物和农药所致的变态反应及各种职业性变态反应性疾病日见增多。

第二节 Ⅱ型超敏反应

一、概 念

Ⅱ型超敏反应是一类由抗体与细胞或组织的抗原性成分起反应或与结合

在细胞或组织上的抗原或半抗原相作用而发生的细胞毒反应。由抗细胞表面和组织表面抗原的抗体与补体途径中的一些成分及各种效应细胞相互作用，造成这些细胞和组织的损伤。当 IgG 和 IgM 类抗体与靶细胞表面抗原结合，通过募集和激活炎症细胞及补体系统而引起靶细胞损伤，所以此型超敏反应也称抗体依赖的细胞毒超敏反应、溶细胞型或细胞毒型超敏反应。抗原和抗体反应可激活一些细胞毒细胞（如杀伤性淋巴细胞，巨噬细胞）产生抗体介导的细胞毒（ADCC）反应，这些抗体能与自身抗原或与自身抗原有交叉反应的外来抗原特异性结合，而且通常还涉及补体的激活，通过 C3 激活补体组分对结合抗体的细胞产生调理性黏附（其后果是细胞被吞噬），或可使整个补体系统激活导致细胞溶解或组织损伤。该型反应中的靶细胞主要是血细胞和某些组织成分，自身抗体可以与靶抗原结合或以游离形式存在于血循环中。因此Ⅱ型超敏反应的特点是：①抗体主要是 IgG 和 IgM；②补体、巨噬细胞和 NK 细胞参与致病；③靶细胞主要是血细胞和某些组织成分。

二、组织损伤机制

Ⅱ型超敏反应中最常见的形式是由直接针对细胞或组织上的抗原并能结合补体的 IgG 或 IgM 类抗体所引起。细胞表面抗原与相应抗体结合导致细胞崩溃死亡、组织损伤或功能异常。参与Ⅱ型超敏反应的抗原、抗体及组织损伤机制分述如下：

（一）抗　原

Ⅱ型反应中的靶细胞主要是血液细胞，白细胞、红细胞和血小板均成为反应的攻击目标。某些组织特别是肺基底膜和肾小球毛细血管基底膜也是该型反应中的常见抗原。

（1）同种异型抗原即组织细胞表面固有抗原，同种不同个体间血型不匹配引发的输血反应以及母子因 Rh 或 ABO 血型不符所致的新生儿溶血症就是典型的例子。

（2）感染病原微生物特别是病毒感染可致自身细胞或组织抗原的抗原性改变，以致机体将它们视为外来异物发生免疫应答；有些病原微生物与自身组织抗原有交叉反应性，如有的链球菌株细胞壁与人肺泡基底膜及肾小球毛细胞血管基底膜具有交叉抗原性，因此抗链球菌的抗体也能与肺、肾组织中的交叉抗原结合，发生交叉反应，引起自身组织损伤。

（3）药物多数药物作为外来抗原或半抗原，它们可吸附在血细胞表面，成为新抗原被机体免疫系统识别。如某些化学制剂、药物、病原微生物抗原或半抗原，吸附于血清蛋白或血细胞表面而成为完全抗原，可刺激机体产生

特异性抗体，介导吸附细胞的损伤。

（4）免疫耐受机制的破坏因物理、化学、生物、外伤等使机体免疫耐受机制失灵，从而产生了抗自身抗原的抗体。以上四点是机体产生抗细胞表面抗原或组织抗原的可能原因。

（二）抗　体

参与Ⅱ型超敏反应的抗体主要是 IgG（IgG1、IgG2 和 IgG3）和 IgM，少数为 IgA。这些抗体可以是抗原诱导产生的抗体、被动转移性抗体或针对自身细胞组织抗原的自身抗体。表面覆盖有抗体的靶细胞可以通过效应细胞上抗体的 Fc 受体将效应细胞与靶细胞连接起来，发挥效应细胞的杀伤作用。然而细胞表面的 Fc 受体对不同的 IgG 类结合有所不同，介导 ADCC 最有效的抗体类别是 IgG1 和 IgG3 及其 Fc 片段，IgG2 不能与巨噬细胞及补体 C1q 结合。IgG4 几乎不能与效应细胞结合。IgM 为五聚体，能最有效地结合抗原、激活补体和介导吞噬作用。IgG 的 CH2 和 IgM 的 CH4 功能区均有与 Clq 结合的位点。

抗体引起靶细胞或组织损伤的主要机制

（1）补体介导的细胞溶解 IgM 或 IgG 类自身抗体与靶细胞表面上的抗原特异性结合后，经过经典途径激活补体系统，活化的补体系统形成膜攻击单位，直接导致抗体致敏的靶细胞膜的溶解，例如在 ABO 血型的输血中，如果血型不符合时，红细胞与相应的抗体结合能直接激活补体系统的经典途径，形成 C5b6789 的溶膜复合物而使红细胞在血管内发生溶血。

另外，活化的 C3 也能与带补体受体的效应细胞，如嗜中性、嗜酸性粒细胞、单核和巨噬细胞结合，活化的 C3 也能通过 C3b 受体与靶细胞结合。通过这些途径促进补体的溶胞和效应细胞的细胞毒作用。补体片段 C5a 有趋化性的作用，能诱导效应细胞如嗜酸性，嗜中性粒细胞和巨噬细胞穿出血管而集中到炎症部位。

（2）炎症细胞的募集和活化在抗体所在处由于局部补体活化产生的过敏毒素 C3a 和 C5a 对中性粒细胞和单核细胞具有趋化作用，因此常可见有这两类细胞的聚集。这两类细胞的表面均有 IgGFc 受体，故 IgG 抗体与靶细胞结合并被激活。活化的中性粒细胞和 MΦ 产生水解酶和细胞因子等而引起细胞或组织损伤。

（3）覆盖有抗体的靶细胞被吞噬抗体 Fab 段与靶细胞表面特异性抗原结合，抗体 Fc 端与吞噬细胞表面 Fc 受体结合，从而促进吞噬细胞吞噬靶细胞（调理作用）。如自身免疫性溶血性贫血时机体产生了抗体自身红细胞的抗体，被自身抗体结合和调理的红细胞易于被肝脾中的 MΦ 所吞噬，因而红

细胞减少引起贫血。

（4）依赖抗体的细胞介导的细胞毒作用（ADCC）抗体 Fab 段与靶细胞表面相应抗原结合，抗体 Fc 段与 NK 细胞表面 Fc 受体结合，介导对靶细胞的 ADCC 效应。覆盖有低浓度 IgE 抗体的靶细胞能通过细胞外非特异性杀伤机制，包括被非致敏淋巴网状细胞非特异性地杀伤。因淋巴网状细胞表面有能与 Igg Fc 的 CH2 和 CH3 功能区结合的特异性受体，这种杀伤作用称为 ADCC。吞噬的和非吞噬的髓样细胞以及 K 细胞均有 ADCC 活性。如人单核细胞和 IFN－γ 活化的中性细胞藉助其 FcγRⅠ和 FcγRⅡ杀伤覆盖有抗体的瘤细胞，而 K 细胞通过 FcγRⅢ杀伤靶细胞。在 ADCC 中效应细胞与靶细胞间的接触十分重要。细胞弛缓素 B 因干扰细胞移动而能抑制 ADCC 反应。聚合 IgG 因牢固地结合 Fc 受体而阻断效应细胞与靶细胞表面上的抗体相互作用。在体外嗜酸性粒细胞杀伤覆盖有 IgG 或 IgE 抗体的血吸虫。ADCC 在体内的作用如何尚待阐明，但这种细胞毒机制对于像寄生虫和实体瘤这类难以经吞噬而杀伤的细胞靶而言可能是积极意义的。

（5）抗细胞表面受体、抗激素、抗交叉抗原等自身抗体也具有重要致病作用。

三、临床常见的Ⅱ型超敏反应性疾病

（一）同种不同个体间的Ⅱ型超敏反应

（1）输血反应。血型系统由专一于红细胞表面抗原的基因座位组成，带有特殊血型的个体能识别带不同血型抗原的红细胞，并产生溶血反应。ABO 血型是人红细胞膜上最主要的系统。在 ABO 血型系统中红细胞上带有抗原，而血清中有天然产生的抗另外抗原的抗体即非自身的 ABO 抗原的抗体。AB 血型的人有 A 和 B 基因，其红细胞表面有 A 和 B 抗原，而 O 型血的人没有 A 和 B 基因，故只合成 H 物质。A 型血的人血清中有天然抗 B 抗体，B 型血的人则相反，而 O 型血的人有抗 A 和抗 B 抗体。这些同族血细胞凝集素结合，补体被激活，红细胞被破坏，出现溶血、血红蛋白尿等现象。结合了同族血细胞凝集素的红细胞也可被吞噬细胞吞噬消灭。当输血到受者时，如果受者有对输入的红细胞的抗体便发生输血反应，如将 A 型血输给 B 型血患者，供者红细胞表面抗原与受者血清中相应抗体结合，可激活补体而引起溶血反应，常见的临床症状为发热，低血压，后背下部痛，胸有压迫感和恶心、呕吐。反应强弱取决于抗 ABO 系统中抗原的抗体种类和数量。而非溶血性反应是由于反复输入异型 HLA 的血液，在受者体内诱发抗白细胞、抗血小板或抗血浆蛋白抗体，在补体参与下，导致白细胞和血小

板破坏。

（2）新生儿溶血症。多发生于 Rh^- 孕妇所产 Rh^+ 胎儿。Rh 抗原最早发现于 20 世纪 30 年代，是用兔抗恒河猴抗体检查到的抗原称为 Rh 抗原。后来发现人体中用抗 Rh 血清也能检查到 Rh 阳性反应（白人中有 85%）。不起反应的为阴性。20 世纪 40 年代发现了动物的 Rh 抗原与人的 Rh 抗原并不一致。但人的抗原还是沿用了这一名称。Rh 血型为一重要抗原系统，人的 Rh 抗原有 D，C，E，c，e 等，其中 RhD 抗原最重要。如母亲为 Rh 阴性，胎儿为 Rh 阳性，在首次分娩时，胎儿血进入母体内，母亲被胎儿的 Rh 阳性红细胞的致敏，产生了以 IgG 类为主的抗 Rh 抗体。当再次妊娠时，抗 Rh 抗体经胎盘进入胎儿体内，并与胎儿红细胞膜上的 RhD 抗原结合，红细胞被溶解破坏。分娩后 72 h 内给母体注射抗 RhD 血清能成功的预防 Rh 血型不符所引起的溶血症。

中国人多为 ABO 血型系统，新生儿溶血症也可发生于 ABO 血型不符的母、胎间，ABO 血型系统中红细胞抗原产生的抗体是以 IgM 为主，IgM 不能通过胎盘进入胎儿，因此基因血型不符合虽也会发生新生儿溶血症，多发生于孕妇血型为 O 型，胎儿为 A 型、B 型或 AB 型。分娩时少量进入母体的胎儿红细胞能刺激母体产生 IgG 类抗体，通过胎盘进入胎儿体内。由于胎儿血清及其他组织中也可表达 A、B 抗原物质，也可与抗体结合，故抗体并非全部作用于红细胞，因此病性较轻，但至今尚无有效的预防措施。

（3）移植排斥反应器官移植后的排异反应其机制十分复杂，细胞免疫和体液免疫均参与。针对移植抗原的抗体对移植物可有直接细胞毒性，或引起吞噬细胞的黏附或由 K 细胞行使非特异性攻击。当抗体与血管内皮表面上抗原结合时，抗体亦可引起血小板黏附。超急排斥反应为受者体内预存的抗体所介导。

（二）自身免疫性Ⅱ型超敏反应

（1）自身免疫性溶血性贫血可因感染、药物及辐射等引起。由于病毒、支原体等感染或长期服用某种药物如甲基多巴，使自身红细胞膜表面抗原发生改变，刺激机体产生抗自身红细胞的抗体，主要为 IgG 类。引起红细胞溶血的主要机制是：自身抗体与红细胞结合，激活补体使补体活化至 C9，则红细胞直接被溶解；如补体仅激活 C3，则覆盖有 IgG 抗体和 C3b 的红细胞被肝脾中的吞噬细胞吞噬消化。此类贫血症状在停药后能自行消退。引起红细胞溶解的自身抗体有温抗体和冷抗体两类，它们分别在 37 癈和 20 癈以下发挥作用。

（2）肺出血肾炎综合征即 Goodpasture 综合征，是由自身抗体引起的以

肺出血和严重肾小球肾炎为特征的疾病。表现蛋白尿和血尿，肾功能衰竭，肺出血或尿毒症。这是因为抗基底膜抗体造成的基底膜免疫损伤的结果。自身抗体与肺泡和肾小球毛细血管基底膜中第Ⅳ型胶原结合并在局部激活补体和中性白细胞。显微镜下可见坏死、白细胞浸润及抗体和补体沿基底膜呈线状沉积。

（3）自身免疫性受体病抗细胞表面受体的自身抗体与相应受体结合导致细胞功能紊乱，但无炎症现象和组织损伤。细胞功能的异常可以表现为受体介导对靶细胞的刺激作用，也可表现为抑制作用。

①甲状腺功能亢进（Graves 病）。Graves 病属于自身免疫性抗受体病，是一种特殊的Ⅱ型超敏反应，即抗体刺激型超敏反应，是刺激性作用的一个例子。病人产生了抗甲状腺上皮细胞刺激激素（Thyroid - stimulating hormone，TSH）受体的自身抗体即 IgG，TSH 的生理功能是刺激甲状腺上皮细胞产生甲状腺素。自身抗体与甲状腺细胞表面 TSH 受体结合其作用与 TSH 本身相同，其半衰期比 TSH 长，刺激作用更强，因而导致对甲状腺上皮细胞刺激的失调，甚至在无 TSH 存在下也能产生过量甲状腺素，出现甲状腺功能亢进。这种自身抗体（IgG）被称为长效甲状腺刺激素（LATS）Roiitt 称这种刺激型超敏反应为 V 型超敏反应，但多数人认为它是Ⅱ型超敏反应的一种特殊表现形式。

②重症肌无力。是抗受体抗体介导的功能受抑制的病症。80% 以上患者有针对神经肌肉接头处突触后膜上乙酰胆碱受体的抗体，补体参与发病过程。神经肌肉传导障碍导致晨轻暮重、活动后加重、休息可减轻的渐进性骨髓无力及各种受累器官的症状。因受体内吞和在胞内的降解，受体数目减少。

③胰岛素抗性糖尿病。有些对胰岛素无反应的糖尿病人抗胰岛素体的自身抗体，受体与自身抗体结合后，胰岛素不能与其受体结合。

（4）抗激素自身抗体所致的疾病。有的恶性贫血与抗体内源性因子即肠道吸收维生素 B_{12} 辅助因子的自身抗体有关。自身抗体与该因子结合后，辅助因子功能被抑制，结果维生素 B_{12} 缺乏，造成血细胞生成异常和幼巨细胞贫血。

（三）抗交叉的反应性抗原的抗体致的疾病

急性风湿热是抗与自身蛋白质有交叉反应的外来抗原的抗体所致疾病的最好例子。其特征是关节炎、心脏瓣膜损伤引起的心内膜炎和心肌炎。抗链球菌细胞壁蛋白质的抗体与心肌细胞上的交叉抗原结合而引起心肌损伤。

（四）Ⅱ型药物反应

药物为半抗原，结合于血液有形成分的表面则成为细胞－药物复合物并导致细胞毒抗体的产生。如与持续服用氯丙嗪或非那西汀有关的溶血性贫血，与服氨基匹林或奎尼丁有关的粒细胞缺乏症，用司眠脲引起的血小板减少性紫癜等均属此类。非那西汀等药物与血浆蛋白结合成抗原，引发产生抗体。如果再用同样的药物时，抗体与药物形成复合物。通过 Fc 及补体 C3b 与红细胞、粒细胞、血小板相黏附，在单核—巨噬细胞协同作用下，造成红细胞破坏，发生贫血。

第三节　Ⅲ型超敏反应

一、概　念

Ⅲ型超敏反应是由免疫复合物引起的，因此又称免疫复合物超敏反应。Ⅲ型超敏反应的抗体虽与Ⅱ型超敏反应中的抗体相似，主要也是 IgG 和 IgM 类抗体，但所不同之处Ⅲ型超敏反应是一类由循环中可溶性抗原抗体免疫复合物沉着在血管或肾小球基底膜、血管壁、皮肤或滑膜等组织中所致的免疫复合物（IC）反应。在通常的情况下进入机体的抗原或者自身抗原与体内的相应抗体形成复合物后可以被免疫系统中的吞噬细胞清除，只有当免疫复合物不能及时清除时才会沉渍下来，激活补体。免疫复合物激活补体系统而引起一连串变化，产生过敏毒素和吸引中性粒细胞在局部浸润；使血小板聚合，释放出血管活性胺或形成血栓；激活 M 鍪故头懦鲶 L－1 等细胞因子。结果引起以充血水肿、局部坏死和中性粒细胞浸润为特征的炎症性反应和组织损伤，该型超敏反应亦称免疫复合物介导的超敏反应。免疫复合物的形成部分取决于免疫复合物中抗原与抗体的相对比例，当抗体过多时，复合物急速地沉积于抗原附近（如类风湿关节炎时沉积于关节内），或被巨噬细胞吞噬，因而无害；当抗原稍多于抗体则复合物有易溶倾向，可沉积于不同器官而引起全身性反应。

二、Ⅲ型超敏反应的发病机制

（一）影响免疫复合物沉积的因素

下列因素与免疫复合物的沉积程度有关：

（1）循环免疫复合物的大小这是一个主要因素，发生免疫复合物型的超敏反应的条件之一是血液中要有复合物持续存在，在正常的情况下免疫复

合物会很快被免疫系统排除。免疫复合物的大小与排除的速度有很密切的关系，因很小的免疫复合物容易从肾排出，或在血液中循环，不易发生沉积，大的免疫复合物易被单个核吞噬细胞吞噬和清除。一般而言分子量约100万左右的中等大小的可溶性免疫复合物于沉积在组织中。复合物的排除是通过肝血流带到肝内和脾内的网状内皮细胞上（主要是巨噬细胞），由细胞上Fc受体与大颗粒上的IgG的Fc结合而吞噬。有遗传缺陷的个体产生低亲和力的抗体。而自身抗原上仅有少数的决定簇，因此自身抗体与自身抗原形成较小的复合物颗粒。这是这些个体中免疫复合物长时间不易排除的原因。

（2）机体清除免疫复合物的能力免疫复合物在组织中沉积的程度与机体从血循环中清除它们的能力呈反比。循环免疫复合物的清除由单核吞噬细胞系统以及结合补体蛋白质的功能的完整性所决定。吞噬细胞功能缺陷促进免疫复合物持续存在并继而在组织中沉积。C2或C4先天性缺陷的病人常可引起Ⅲ型超敏反应，其原因是抗原体反应所产生的C3b不足，或因缺乏补体受体介导的吞噬作用面导致免疫复合物在血流中持续循环。

（3）抗原和抗体和理化特性抗原和抗体的表面电荷、价、它们之间结合的亲和力、抗体的类别等均影响免疫复合物的形成和沉积。这种复合物产生的组织损伤一般较重而且持续时间较长。

（4）解剖和血流动力学因素这些因素对于决定免疫复合物的沉积位置是重要的。为行使形成尿液或滑膜液的功能，肾小球和滑膜中的毛细胞血管是在高流体静压下通过毛细胞血管壁而超过滤的，因此它们成为免疫复合物最常沉积的部位之一。

（5）炎症介质的作用免疫复合物与炎症细胞结合并刺激它们在局部细胞因子和血管活性胺等介质，使血管通透性增加。并由于内皮细胞之间的间距增大而增加了免疫复合物在血管壁的沉积，结果放大了组织损伤、使病情加重。

在体内，免疫复合物形成的结局不但取决于抗原和抗体的绝对量，而且还取决于它们的相对比例。抗原抗体的相对比例决定了复合物的性质以及在体内的分布。抗体过剩和轻度抗原过剩的复合物迅速沉积在抗原进入局部。

（二）免疫复合物引起组织损伤和致病的机制

在免疫应答过程中，抗原抗体复合物的形成是一种常见现象，但大多可被机体的免疫系统清除，而不具有致病作用。但如复合物的数量、结构、清除情况或局部功能的和解剖的特性等因素造成大量复合物沉积在组织中时，免疫复合物能诱发许多炎症过程，它们与补体系统作用，产生C3a和C5a等补体片段，这些是过敏性毒素，有趋化性作用，能引起肥大细胞和嗜碱性

粒细胞释放血管活性胺、于是增加了血管通透性以及聚集多形核细胞的作用，则引起组织损伤和出现相关的免疫复合物病。

（1）抗原抗体复合物与补体结合沉积的 IC 可激活补体系统，补体被活化，产生膜攻击复合物和释放出过敏毒素 C3a 和 C5a。补膜攻击复合物可导致局部组织损伤；过敏毒素引起肥大细胞脱颗粒、释放出组胺、趋化因子等生物活性介质从而使血管通透性增加，导致渗出性炎症反应，并促进中性粒细胞在复合物沉积部位聚集。趋化因子吸引多形核细胞流动和汇集，多形核细胞将免疫复合物吞噬，中性蛋白水解酶和胶原酶等蛋白水解酶、激肽形成酶和阳离子从中性粒细胞中释放出，损伤局部组织和加重炎症反应。活化的 C567 附着细胞表面并结合 C8 和 C9，通过反应性溶解作用使损伤进一步加重。抗原抗体复合物激活补体系统是Ⅲ型超敏反应中引起炎症反应和组织损伤的最主要原因。

（2）免疫复合物引起血小板聚合在局部凝集、激活的血小板，可释放出 5－羟色胺等血管活性胺加剧局部渗出性反应，并激活凝血过程以形成血栓，后者使血流滞或血管完全被堵导致局部组织缺血及坏死。

（3）可溶性免疫复合物被 Mφ 吞噬后不易被消化，而成为一个持续的活化刺激动因，Mφ 被激活释放出 IL－1 等细胞因子，加重了炎症反应。

三、常见的Ⅲ型超敏反应性疾病

（一）局部形成的免疫复合物所致的炎症损伤

（1）Arthus 反应这是一种局部的急件炎症反应，发生在小血管内及管壁周围，最常见于皮肤。对动物进行重复免疫一直到可以出现免疫沉淀物的水平，主要是产生的 IgG 抗体与抗原结合的结果。Maurice Arthus 用马血清皮内免疫家兔几周后发理，再次重复注射同样血清后在注射局部均出现红肿反应，3～6 min 的反应达高峰。红肿程度随注射次数增加而加重，注射 5～6 次后，局部出现缺血性坏死，反应可自行消退或痊愈，反应的强度有赖于注射抗原的量。Arthus 反应发生的机制是在作抗原肌肉注射时，抗原与血液中的已有的特异性抗体形成了免疫复合物，复合物活化了补体系统以及作用于血小板。补体作用于嗜中性粒细胞释放溶菌酶破坏血管壁，或者直接透过血管壁，引起免疫复合物介导的血管炎。补体活化后迅速产生的过敏毒素引起肥大细胞脱颗粒。血小板聚合并释放出血管活性胺，使红肿加剧。皮损中有大量多形核白细胞浸润。病人经常反复注射胰岛素或生长激素治疗时就会引起上述类似的病变。

（2）对吸入抗原的反应对吸入外源性抗原的肺内 Arthus 型反应与人类

很多超敏反应性疾病有关，它们多表现为与职业有关的超敏反应性肺炎，如农民肺患者吸入嗜热放线菌孢子或菌丝后 6 ~ 8 min 内出现严重呼吸困难，是吸入的抗原与特异性 IgG 抗体结合成免疫复合物所致。临床上尚有许多与此相类似的肺部Ⅲ型超敏反应，如养鸽者病（因吸入鸽干粪中的血清蛋白质）、干乳酪洗涤者肺（因吸入青霉菌孢子）、皮革者肺（吸入牛蛋白质）、剥枫树皮者病（吸入 Cryptostrama 孢子）等。这些都是由于反复吸入工作环境中的抗原性物质而产生的抗原抗体复合物介导的职业性疾病。

（3）对内源性抗原的反应感染因子在局部释放的抗原常引起Ⅲ型超敏反应，如淋巴管中的死丝虫引起炎症反应，使淋巴流动受阻。在有高水平抗体的患者，治疗使抗原突然释放出而产生免疫复合物介导的Ⅲ型超敏反应。

（二）循环免疫复合物所致的疾病

（1）血清病与 Arthus 反应不同，血清病是一种由循环免疫复合物引起的全身的Ⅲ型超敏反应性疾病，循环的免疫复合物沉淀在组织上增加血管的透性，从而引发炎症。用马抗白喉或破伤风类毒素的抗血清被动免疫以预防和治疗这些严重疾病到今仍不失为一个重要的手段。有些病人在注射动物抗血清后 7 ~ 10 d 出现体温升高、全身荨麻疹、淋巴结肿大、关节肿痛等症状。有的还可有轻度急性肾小球肾炎和心肌炎。血清中补体水平下降。由于该病主要因注射异种动物血清所致，故称为血清病。用抗蛇毒抗体治疗蛇咬伤，用鼠源性单克隆抗体治疗恶性肿瘤或自身免疫病，用抗淋巴细胞或抗胸腺细胞血清治疗移植排斥反应时也可出现血清病。在停止注入上述血清后，症状一般不经治疗可自行消退。

在使用大量异种血清治疗时也能引发此类疾病，如抗白喉毒素抗血清的大量使用就是一例。用实验的方法给家兔注射外源血清，5 d 后就会出现抗外源血清的抗体，由于此后形成 Ab - Ag 复合物沉淀，家兔出现动脉炎和肾炎的症状。10 ~ 15 d 以后才又出现游离的抗外源血清的抗体。由于一次注射大量异种蛋白抗原引起的血清病称急性血清病，其特征是有大量免疫复合物沉积，因反复注射异种蛋白抗原所致者称慢者称慢性血清病，复合物形成较少，并常沉积在肾、动脉和肺中。

血清病的发病机制是由于注射的抗原量过大、致使在机体中产生相应抗体时血循环中仍存在有较多所注射的抗原，一旦抗原、抗体相遇就形成比例不等的可溶性复合物。当中等大小的复合物未能被单核吞噬细胞系统吞噬清除时则附着在皮肤、关节、肾和心等处。关于免疫复合物为什么特别容易沉积在某局部的确切机制仍不明，但最近认为在某特定位置产生复合物的一个机制是在抗体合成开始之前该组织已有抗原在局部沉积，因而抗体出现后就

与存在于该组织上的抗原结合，在此情况下，复合物在局部而非在血循环中形成。

（2）免疫复合物性肾小球肾炎该病是链球菌的胞壁抗原与相应抗体形成 IC，沉积于肾小球基底膜所致。一般多发生在链球菌感染后 2～3 周，少数患者可发生急性肾小球肾炎。在有慢性感染和自身免疫情况下，因抗原持续存在而使免疫复合物的沉积长期存在。很多肾小球肾炎与循环免疫复合物有关，如系统性红斑狼疮病人肾中有 DNA/抗 DNA/补体沉积物。最明显的是由肾原性（Nephritogenic）链球菌某些菌株感染以后所引起的肾病以及与三日疟有关的尼日利亚儿童的肾病综合征。其他微生物如葡萄球菌、肺炎链球菌、某些病毒或疟原虫等感染也可引起类似的肾小球损伤。

（3）复合物在身体其他部位的沉积脉络膜从是一个主要的过滤场所故也有利于免疫复合物的没积，这是系统性红斑狼疮病人出现中枢神经系统症状的原因，脑脊液中 C4 水平常下降。在亚急性硬化性泛脑炎病人的神经组织中有麻疹抗原和相应抗体的复合物沉积。在血清病和系统红斑狼疹的皮疹中，其表皮与真皮连接的基底膜上有 lg 和 C3 沉积。

第四节　Ⅳ型超敏反应

一、概念及基本特征

（一）概　念

Ⅳ型超敏反应是一类由致敏 T 淋巴细胞接触抗原后所引起的反应，是由细胞介导的迟发或结核菌素型超敏反应。DTH 与其他 3 种类型超敏反应不同，其他反应总的来说都是体液介导的，而 DTH 是细胞介导的，因此它不能通过血清在动物之间转移，而只能通过 T 细胞转移。循环中的抗体并不参与这型组织的损伤，迟发型超敏反应通过外周血淋巴细胞从致敏者转移给正常人。T 细胞对于迟发型超敏应答是必不可少的，这种 T 细胞预先受到特殊抗原的致敏（TD），在超敏反应中还受到其他类型细胞的辅助。在豚鼠、大鼠和小鼠中，对绝大多数蛋白质抗原的 DTH 反应均可经 $CD4^+$T 细胞被动转移。但最近证明，$CD8^+$T 细胞也可被动转移 DTH 样反应。如抗病毒的 DTH 反应主要是由 $CD8^+$T 细胞介导的。而对注射入体内的蛋白质或细胞外的抗原主要由 $CD4^+$T 细胞所介导。DTH 反应中的最终效应细胞是活化的单个核吞噬细胞。

(二) 特 点

该型反应均在接触抗原24 h反应出现反应，故Ⅳ型超敏反应又称为迟发型超敏反应。其特点是：反应发生慢（24～72 h），消退也慢；炎症细胞因子可参与致病；无明显个体差异；病变特征是单个核细胞浸润为主的炎症反应；无抗体和补体参与。在对胞内寄生菌如分枝杆菌、单核细胞增多性李斯德氏菌、病毒、真菌感染的许多变态反应中；对某些简单化学物质的接触性皮炎中以及对移植组织器官的排斥反应中均可见DTH反应。

二、组织损伤机制

迟发型超敏反应中T细胞的致敏与一般T细胞致敏的机制相同。只是抗原为迟发性超敏反应的变应原，同样要经抗原递呈细胞（MHC－Ⅱ）递呈给$CD4^+$T细胞，活化的T细胞释放淋巴介素如γ－IFN和TNF－β及MAT等活化巨噬细胞。活化后的巨噬细胞通过释放IL－1、TNF－α、O_2、H_2O_2、－OH等发挥损伤组织细胞的功能。由此可见巨噬细胞也是迟发型超敏反应中的关键效应细胞。转移实验同样表明：必须把致敏个体中的T细胞和骨髓细胞一起转移到受辐照处理的个体中去，才能表现对迟发型变应原刺激的应答，只转移T细胞还不能表现超敏反应。

上面已提到，血清抗体不能从一致敏的个体将DTH反应转移给一正常个体。DTH的转移需要淋巴样细胞，特别是T细胞。在人类，活的外周白细胞以及从它们提取的低分子量的转移因子均已使DTH转移成功。转移因子可能含有多能刺激已致敏T细胞介导DTH的物质。急性DTH是细胞介导免疫的一种形式。在反应中，$CD4^+$T细胞识别可溶性蛋白质抗原，$CD8^+$T细胞识别细胞内微生物抗原，它们通过分泌细胞因子对抗原进行应答。其中TNF激活后毛细静脉的血管内皮细胞，血管内皮细胞将中性粒细胞，继之将淋巴细胞和单核细胞募集到组织中。INF－γ则能使聚集的单核细胞分化成Mφ。而将抗原清除。但如抗原持续存在，则Mφ处于慢性活化状态，并分泌更多细胞因子和生长因子，最后损伤组织被纤维组织所代替。在DTH早期，炎症浸润细胞中富集具有活化细胞表型特征（如IL－2受体P55表达增加）的$CD4^+$T细胞和活化的Mφ。而DTH晚期，上皮样Mφ和巨细胞与纤维母细胞和新血管数目均有增加。

DTH反应包括三个连续的过程，它们是：

（1）识别相（Vognitive phase）$CD4^+$T和某些$CD8^+$T细胞识别存在于抗原呈递细胞（APC）表面上的外来蛋白质抗原。在皮肤DTH中，将抗原呈递给$CD4^+$T细胞并启动DTH反应的APC可能有三类：第一是存在于上皮中的

特定的 APCS 如郎格罕细胞。它们能将抗原运输到引流淋巴结并在此与抗原特异性 T 细胞接触，活化的 T 细胞在数目和跨越内皮屏障的能力方面均有增加。第二是皮肤中的 Mφ 和单核细胞，它们一旦离开血液循环并进入 DTH 反应部位的血管外组织中就分化成 DTH 的最终效应细胞即活化的巨噬细胞。活化的 Mφ 能完成诸如杀灭被吞细胞菌等静止单核细胞所不能完成的功能。可溶性细胞因子特别是 IFN－γ 和脂多糖等细菌产物均能引起基因转录和 Mφ 活化。活化的 Mφ 能过分泌炎症介质引起局部炎症反应，清除微生物抗原，使 DTH 消退。最后一类 APCs 可能是后毛细静脉内皮细胞。抗原进入局部的小静脉内皮细胞在 DTH 中的作用除作为 APC 启动 T 细胞活化外，还能调节白细胞的浸润，因此它在炎症反应中具有重要作用。上述 APCs 中没有一类 APC 能单独在所有种属、所有组织启动各种抗原的 DTH 反应。

（2）激活相（Activation phase）为 T 细胞分泌细胞因子和增殖相。一旦 T 细胞被 APCs 激活，就能通过分泌细胞因子而介导 DTH。下面 3 个细胞因子对炎症反应的发生最为重要：①IL－2：IL－2 能引起抗原活化 T 细胞的自泌性增殖。IL－2 还能放大 $CD4^+$ T 细胞合成的 IL－2、IFN－γ、TFN 和淋巴素（Lymphotoxin，LT）。②IFN－γ：IFN－γ 能作用于内皮细胞和 Mφ 等 APCs，增加 MHC Ⅱ 类分子表达，提高将抗原呈递给局部 $CD4^+$ T 细胞的效率，这也是诱导 DTH 的一个重要放大机制。③TNF 和 LT：它们能放大小静脉内皮细胞结合和活化白细胞的能力，从而导致炎症反应。

（3）效应相（Effector phase）在 DTH 中，效应相可分成炎症和消退两步。炎症指的是血管内皮细胞被细胞因子激活，血管中的白细胞聚集于抗原进入的局部组织中。消退是由于外来抗原被细胞因子活化的 Mφ 所消除。

三、临床常见的Ⅳ型超敏反应性疾病

（一）典型的皮肤 DTH 反应

1. Jones－Mote 反应

是一种以可溶性抗原单独注射或抗原加福氏不完全佐剂免疫动物后所出现的皮肤 DTH 反应。24 h 反应达到高峰，红肿明显，但硬结持续时间较短，皮肤的反应消退较早。Jones－Mote 反应的持点是表皮下的嗜碱性粒细胞浸润，因此又称为皮肤嗜碱性细胞超敏反应（Cutaneous basophil hypersens itivrity，CBH）。不过致敏 T 细胞仍是引起 CBH 的主要细胞，因注射抗 T 细胞血清后 CBH 被抑制，提示嗜碱性细胞的大量浸润可能是一种较早出现的继发反应的表现。

在豚鼠的诱导实验中，使用可溶性抗原（卵蛋白和不完全福氏佐剂

FIA）注射，诱导7~10 d后，再用抗原攻击后24 h使出现皮肤红肿高潮即Jones-Mote反应。如果用卵蛋白和福氏完全佐剂（FCA）注射，再进行攻击试验，则皮肤红肿反应的高潮在48 h。同时可以看到嗜碱性粒细胞浸润，这是属于结核菌素型的反应。当豚鼠预先使用环磷胺（CY）处理，再注射OA和FLA，结果得到的反应类似于结核菌素型（FIA中无结核菌，FCA中有结核菌），但实际上诱导的是Jones—Mote反应。从Jones-mote反应的动物中取出B细胞能抑制用环磷胺处理的Jones-mote动物的皮肤应答，但不能抑制FCA免疫动物的皮肤应答，这显示结核菌素型应答和用CY处理的Jones-mote动物皮肤试验，虽然皮肤反应时间相同（48h），但免疫的效应机制不同。

2. 肉芽肿样超敏反应

这是迟发性超敏反应中最重要的一类反应，是由于致病因子（通常为微生物如分枝结核杆菌等）持续存在于Mφ内而又没能被清除灭活，而引起的一种特征性炎症反应。它的特点是能引起许多病理学作用，包括T细胞介导的免疫。变应原通常是微生物和寄生虫，如血吸虫等。病原的细胞并不被破坏，而是持续存在于巨噬细胞内，结果形成上皮细胞肉芽肿。此外还有嗜酸性粒细胞参与，肉芽肿的组织学反应也不同于结核菌素型反应，偶尔抗原抗体复合物或非免疫性物质如滑石粉等也可引起肉芽肿。肉芽肿一般需2周才出现反应，4周时反应达到高峰。在DTH反应晚期，活化Mφ的细胞浆和细胞器均增加。参与肉芽肿的活化Mφ的组织形态学类似皮肤上皮细胞，故称上皮样巨噬细胞，有时数个活化Mφ融合成有多个核的巨大细胞。若这些细胞在抗原如分枝杆菌四周融合包绕，则出现明显可触及的炎症性结节，此即肉芽肿。如将可溶性蛋白质抗原吸附在乳胶颗粒上，则因乳胶颗粒不能消化在组织中长期存在而引起实验性肉芽肿。

3. 接触性皮炎

接触性皮炎是机体再次接触相同致敏原所引发的以皮肤损伤为主要特征的迟发型超敏反应，是一种由T细胞介导的对环境中抗原的湿疹样皮肤病。引起本病的抗原主要是天然的或合成的有机化合物和金属，如镍、染料、磺胺等药物和有毒植物、某种农药和塑料、二硝基氯苯（DNCB）、二硝基氟苯（DNFB）等，但以毒葛和槲叶毒葛最常见。这些物质长期接触皮肤，可与表皮细胞角质蛋白结合成完全抗原，使T细胞致敏。致敏T细胞由淋巴循环转入血流，并分布于全身皮肤。以后，同一致敏原经各种途径（如口服、注射、皮肤接触）进入机体，即可诱发IV型超敏反应。外来半抗原物质可能与郎格罕细胞表面分子结合形成新抗原、富含MHC分子的郎格罕细

胞将抗原加工处理并呈递给 T 细胞。病理特征为小静脉周围有淋巴细胞浸润包绕，上皮细胞有水疱和坏死，有嗜碱和嗜酸性粒细胞，间隙纤维蛋白沉积，皮肤和上皮水肿。一般在 24 h 后发生皮炎，48 ~ 76 h 达高峰，急性皮损表现为红肿和水疱，重症者可有剥脱性炎，慢性表现为丘疹和鳞屑。

（二）移植排斥反应

B 细胞和 T 细胞均参与移植排斥反应，但迟发型超敏反应的一个显著临床表现是移植排斥反应。在典型同种异体间的移植排斥反应中，受者的免疫系统首先被供体的组织抗原所致敏。克隆增殖后，T 细胞到达靶器官、识别移植的异体抗原，启动一系列变化，导致淋巴细胞和单个核细胞局部浸润等炎症反应甚至移植器官的坏死。

（三）与自身免疫病的关系

引起自身免疫的主要机制有多克隆淋巴细胞的刺激，与自身抗原部分交叉反应性外来抗原的侵入以及免疫调节的异常。大多自身免疫的确切发病机制仍不明。很多器官特异性自身免疫病认为是由自身反应性 T 细胞引起的。有些胰岛素依赖性糖尿病人胰岛四周有淋巴细胞和 MΦ 浸润，β 细胞被破坏。将患自发性糖尿病的大鼠或小鼠的 CD4T 细胞转移给正常鼠可引起相似损伤。

（四）与传染病的关系

Ⅳ型超敏反应的组织损伤与感染关系密切，某些胞内寄生微生物（如病毒、胞内菌等）、真菌及某些原虫可作为过敏原，在感染过程中引起以细胞免疫为基础的 IV 型超敏反应，结核病时的肺空洞形成、干酪化和全身毒血症以及麻风病人皮肤肉芽均与细胞介导的超敏反应有关。抗原持续存在引起局部慢性迟发型超敏反应，致敏 T 细胞连续释放出淋巴因子导致大量 Mφ 聚集。病原体感染机体使 T 细胞致敏，在体内长期存留的病原体可持续与致敏 T 细胞接触，促使其释放淋巴因子，引起一系列反应以清除病原体抗原，若该反应过强即可导致组织损伤。天花和花疹的皮疹以及单纯疱疹的皮损主要是由于细胞毒性 T 细胞广泛损伤病毒感染的细胞迟发超敏反应引起。在念珠菌病、皮肤霉菌病、球孢子菌病、组织胞浆菌病等真菌病以及血吸虫病等寄生虫病时均已证明有细胞介导的超敏反应。

Koch 在 1890 年观察到结核菌（Mycobacterium tuberculosis）的培养物过滤液在注射感染过结核病的动物后能诱发炎症反应，但不能诱发正常动物的这种反应，培养物的浓缩液称为结核菌素（Tuberculin 也称 old tuberculin 即 OT）。其他细菌，真菌培养物的类似制剂也能诱发这类迟发型超敏反应。临床上具有诊断意义的结核菌素试验是 DTH 的原型。在被试者前臂皮内注射

结核素（结核杆菌菌体脂蛋白）或分枝结核杆菌的纯化蛋白衍生物（Purified protein derivative，PPD）后，如被检者曾有结核感染史但已痊愈或接种过介苗，则在注射后约4 h，中性粒细胞聚集在注射部位后毛细静脉周围，随继中性粒细胞的浸润迅速消退。约12 h，注射部位小静脉周围代之以T细胞和单核细胞浸润（各约占50%）。这些小静脉的内皮细胞肿胀，细胞器生物合成增加，血浆大分子外漏，纤维蛋白原从血管进入周围组织中后变成纤维蛋白。由于注射部位血管外组织间隙内纤维蛋白原从血管进入周围组织中后变成纤维蛋白。由于注射部位血管外组织间隙内纤维蛋白的沉积和T细胞及单核细胞的聚集而引起组织红肿和硬结。硬结为DTH反应的最主要特征，注射后约18 h出现。24～48 h达高峰，之后红肿和硬结自行消退。当用0.1 μg的结核菌素做真皮内注射致敏的个体（以前患过结核病或受过免疫注射的个体）。注射点10 h内没有变化。此后逐渐出现红肿。逐渐扩大，到24～72 h（约达5 cm），过后逐渐消退。高度敏感的人体，0.2 μg的结核菌素就能造成坏死，但高敏感的脉鼠0.5 μg才能刺激很弱的反应。小鼠、大鼠、兔的刺激需要的剂量要更高。

对常见抗原如念球菌抗原DTH反应阴性提示T细胞功能缺陷，因而患者对正常情况下能抵抗的微生物如分枝结核杆菌和真菌极易感。如抗原在组织中持续存在，则结核菌素反应可进展演变成肉芽肿反应。

综上所述，四型超敏反应的划分，是根据其发生机制和参与反应的效应成分不同而归类。Ⅰ型主要由IgE抗体介导，故补体不参与，由肥大细胞等释放的介质引起组织损伤，症状发生和消退在四个型中最快，与遗传关系也最明显。Ⅱ型由抗组织和细胞表面抗原的IgG或IgM类抗体介导，血细胞是主要靶细胞，补体活化白细胞聚集并活化以及受体功能异常为该型反应机制。Ⅲ型由循环可溶性抗原与IgM或IgG类抗体形成的复合物介导，补体参与反应，白细胞聚集和被激活。Ⅰ～Ⅲ型均可经血清抗体转移。Ⅳ型超敏反应由$CD4^+$T细胞介导，引起组织损伤的机制是Mφ和淋巴细胞的局部浸润、活化及细胞因子的产生。临床实际情况是复杂的，常可见两型或三型反应同存。如在Ⅰ型超敏反应时，所释放的血管活性胺类可增高血管壁通透性，同时血清中抗体和抗原可形成分子大小适宜的IC，有可能沉积于血管壁，引起Ⅲ型超敏反应。即使在同一疾病的不同阶段，参与免疫损伤的机制也可能各异。此外，由于进入机体的途径不同，同一变应原对不同个体或同一个体也可介导不同类型的超敏反应。

第十章　移植免疫

机体丧失功能的器官，可以通过器官移植重建其生理功能。在医学上应用自体或异体的正常细胞、组织、器官置换病变的或功能缺损的细胞、组织、器官，以维持和重建机体生理功能，这种治疗方法称为器官移植。器官移植的实验研究开始于20世纪初。首先Carrel等发现，狗的自体肾移植可维持良好的功能，而同种异体肾移植则总是在移植后1周左右被排斥。但排斥的机制不清。直到20世纪40年代，英国科学家Medawar应用家兔皮肤移植实验模型，进行了一系列研究，证实了移植排斥反应本质是受体免疫系统对移植器官的免疫排斥反应。进一步的研究证明，引起小鼠移植排斥的主要抗原存在于第17对染色体上的主要组织相容性抗原。这些移植排斥的免疫学基础研究，大大促进了临床器官移植的发展。

一般根据移植物的来源和遗传背景可以将其分为：自体移植（Autologous transplantation）、同种移植（Isogeneic transplantation）和异种移植（Heterogous transplantation）。在人的同种移植中，同卵双生子之间，由于遗传背景完全相同，互相之间移植的器官不会受到排斥，临床上进行的器官移植主要是遗传背景不完全相同的同种异基因移植（Allogeneic transplantation）。1954年美国医生Murray第一次施行同卵双生姐妹之间的肾移植获得长期生存，此后许多同种异基因肾移植也获得成功。

20世纪60年代后期，由于HLA配型技术和免疫抑制药物的应用，使临床器官移植成功率大幅度提高。除肾移植和骨髓移植外，肝、胰、心、肺及心肺联合移植也都相继在临床开展。此后几年，由于高效免疫抑制的临床应用，进一步提高了移植器官的存活率，使临床器官移植进入了一个新的阶段。

第一节　器官移植排斥的类型

一、宿主抗移植物反应（Host versus graft reaction，HVGR）

受者对供者组织器官产生的排斥反应称为宿主抗移植物反应根据移植物与宿主的组织相容程度，以及受者的免疫状态，移植排斥反应主要表现为三种不同的类型。

（一）超急排斥

超急排斥（Hyperacute rejection）反应一般在移植后 24 h 发生。目前认为，此种排斥主要由于 ABO 血型抗体或抗 I 类主要组织相容性抗原的抗体引起的。受者反复多次接受输血，妊娠或既往曾做过某种同种移植，其体内就有可能存在这类抗体。在肾移植中，这种抗体可结合到移植肾的血管内皮细胞上，通过激活补体有直接破坏靶细胞，或通过补体活化过程中产生的多种补体裂解片段，导致血小板聚集，中性粒细胞浸润并使凝血系统激活，最终导致严重的局部缺血及移植物坏死。但器官移植的超急性排斥反应也是可以预防的，关键在于供者与受者血型必须相同，并且禁忌在抗淋巴细胞抗体强阳性、交叉配型阳性者作器官移植。应用免疫抑制药物对这类排斥反应效果不佳，唯一治疗措施是再移植。

（二）急性排斥

急性排斥（Acute uejection）是排斥反应中最常见的一种类型，主要是由于 T 细胞的免疫反应所致，一般在移植后 4 天至 2 周左右出现，80% ~ 90% 发生于移植后 1 个月内，并往往在几周乃至术后一年内多次出现。T 细胞介导的免疫应答在急性排斥反应中发挥主要作用。此外，激活的巨噬细胞和 NK 细胞也参与急性排斥反应的组织损伤。

肾移植发生急性排斥时，可表现为突然发生寒战、高热、移植物肿大引起局部胀痛，一般情况变差，移植器官功能减退，如肾移植时出现尿量减少、血肌酐和尿素氮增高；肝移植则有明显的黄疸加深，血清转氨酶、胆红素迅速上升。急性排斥的组织学主要表现为弥漫性间质性水肿和圆细胞浸润，后者包括小淋巴细胞、浆细胞、巨噬细胞、单核细胞和中性粒细胞等。移植物的小动脉和毛细血管内有纤维蛋白和血小板沉积而引起的梗死。即使进行移植前 HLA 配型及免疫抑制药物的应用，仍有 30% ~50% 的移植受者会发生急性排斥。大多数急性排斥可通过增加免疫抑制剂的用量而得到缓解。

（三）慢性排斥

慢性排斥（Chronic rejection）一般在器官移植后数月至数年发生，主要病理特征是移植器官的毛细血管床内皮细胞增生，使动脉腔狭窄，并逐渐纤维化。慢性免疫性炎症是导致上述组织病理变化的主要原因。目前对慢性排斥尚无理想的治疗措施。

二、移植物抗宿主反应（Graft versushost reaction，GVHR）

（一）GVHR 发生条件

如果免疫攻击方向是由移植物针对宿主，即移植物中的免疫细胞对宿主

的组织抗原产生免疫应答并引起组织损伤，则称为移植物抗宿主反应。该反应一旦发生，一般难以逆转。GVHR 的发生需要一些特定的条件：①宿主与移植物之间的 HLA 不合；②移植物中必需含有足够数量的免疫细胞，特别是成熟的 T 淋巴细胞；③受者处于免疫无能或免疫功能严重缺损状态。此外，脾、胸腺移植时，以及免疫缺陷的新生儿接受输血时，均会发生不同程度的 GVHR。

急性 GVHR 一般发生于骨髓移植后 10 ~ 70 d 内。如果去除骨髓中的 T 细胞，则可避免 GVHR 的发生，说明骨髓中 T 细胞是引起 GVHR 的主要效应细胞。但临床观察发现，去除骨髓中的 T 细胞后，骨髓植入的成功率也下降，白血病的复发率，病毒、真菌的感染率也都升高。这说明，骨髓中的 T 细胞有移植物抗白血病的作用，可以压倒残留的宿主免疫细胞，避免宿主对移植物的排斥作用。因此，选择性地去针对宿主移植抗原的 T 细胞，而保留其余的 T 细胞，不但可以避免 GVHR，而且可以保存其保护性的细胞免疫功能。

（二）GVHR 的发生机制

GVHR 是否发生及发生的程度如何主要取决于供体与受体之间 HLA 配型的程度，配型相容性高，则发生排斥的几率会下降。GVHR 在临床上常见于骨髓移植的病例，一旦发生 GVHR，骨髓移植物中成熟的 T 细胞被宿主的异型组织相容性抗原激活，增殖并分化为效应 T 细胞，这些效应细胞随着血液循环游走到受者全身，对宿主的组织或器官产生免疫攻击，就会导致 GVHR。

（三）移植物抗白血病反应

临床上白血病患者进行骨髓移植治疗时，经常会发生白血病复发的问题。研究显示，在同卵双生之间进行骨髓移植，不会发生 GVHR，因为二者的主要和次要组织相容性抗原不存在，但是却存在白血病的复发；但是异源的 HLA 完全相同的骨髓移植之后，白血病复发率却明显降低。主要原因在于是次要组织相容性抗原存在差异，后者的存在可以使供者免疫细胞向残留的白血病细胞进行攻击，防止了白血病复发。

第二节　同种移植排斥反应的机制

同种异体间的器官移植一般均会发生排斥反应，本质上是受者免疫系统针对供者移植物抗原的免疫应答，如同普通抗原诱导的应答，其同样具有特异性。借助近交系小鼠间的皮肤移植试验，已阐明器官移植排斥反应的基本

规律。20世纪40年代Medawar及其他学者用纯系小鼠进行皮肤移植试验发现：①将遗传背景一致的A系小鼠的皮肤移植给另一A系小鼠，不发生排斥反应。②将A系小鼠的皮肤移植给B系小鼠，移植后第一周有血管生长，未见病理改变。一周后移植皮肤褪色、发炎、最后脱落。即发生初次排斥反应（First－setrejection）。③曾经接受过A系小鼠皮肤移植的B系小鼠，再次接受A系鼠皮肤移植后，排斥反应发生得更快，更强烈，称为再次排斥反应（Second－set rejection）。将C系鼠的皮肤移植给接受过A系鼠皮肤移植的B系鼠，仍产生初次排斥反应。④将接受过A系鼠皮肤移植的B系鼠淋巴细胞输给经X射线照射过而未接受过移植的B系鼠，再给该鼠移植A系鼠的皮肤，同样发生再次移植排斥反应。⑤A系鼠和B系鼠交配产下的子代鼠F1，用A系鼠皮肤移植，不发生排斥。但若将F1的皮肤移植给A或B系亲代鼠，移植物则被排斥。上述经典移植试验结果表明：移植排斥反应的实质上即受者免疫系统对供者移植物抗原的免疫应答，同样具有特异性和记忆性；T细胞在移植排斥反应中起关键作用。

移植免疫还具有两个主要特点：①由供者异质抗原表达的主要组织相容性抗原，对免疫系统来讲是一组独特的抗原，是仅有能被T细胞识别的异质蛋白，并且不需要先被分解为较小的肽。②器官和组织移植的受者体内，免疫系统有两套不同的抗原提呈细胞（Antigen－presenting cells，APC），通常表达不同的MHC抗原，有效地刺激免疫反应。

一、移植抗原

免疫系统的激活需要受者的B细胞或T细胞识别异质抗原，在移植中已被鉴别出来的三类抗原包括：①主要组织相容性抗原（Major histocompatibility antigen）；②次要组织相容性抗原（Minor histocompatibility antigen）；③内皮糖蛋白（Endothelial glycoproteins），包括血型抗原（Bid－group antigens）。

（一）MHC抗原

移植中最强的抗原就是MHC分子。人类MHC分子基因产物称为人类白细胞抗原（Human leucocyte antigen，HLA）。Ⅰ类抗原存在于身体几乎所有的细胞。3个Ⅰ类位点是A，B和C，即HLA－A，HLA－B和HLA－C，对移植极为重要；Ⅱ类抗原主要存在于树突状细胞、巨噬细胞、B细胞和其他有抗原提呈功能的细胞中。3个Ⅱ类位点是DR，DQ和DP，即HLA－DR，这是一组组织抗原，其所受控制的染色体区带有一些基因位点。每个位点又有多个等位基因，它们与移植排斥反应有关并标志发生一些疾病。在

人体所有的有核细胞上均能发现浓度不等的人白细胞抗原。对这些抗原的免疫应答是多数移植物排斥的主要原因。

HLA 抗原受控于第 6 号染色体上几个紧密连锁位点上的一组基因复合物，总称为主要组织相容性复体（MHC）。这些基因均为等位基因，即在群体中每个基因有一些不同的形式，而所有的等位基因均为共显性。根据孟德尔定律，每个人的每一位点有 2 个等位基因，或者可能是一对相同的等位基因。根据 HLA 抗原的结构和功能可分为两类。Ⅰ类抗原的重链由 HLA－A，B 或 C 位点基因所编码。Ⅰ类抗原的分子是异质二聚体的多肽，由与 β2－微球蛋白分子相结合的重链组成。这些抗原可见于体内大多数有核细胞和血小板上，与用血清学方法在其他动物上检出的移植抗原有很大的同质性。Ⅱ类抗原由两条多肽链组成，由 HLA－D 区内的基因所编码。HLA－D 区可分成一些亚区，每个亚区内的基因编码不同 HLAⅡ类分子（HLA－DR，DQ 和 DP）的峡春外链。Ⅱ类抗原主要表达在抗原提呈细胞如 B 淋巴细胞，巨噬细胞，树突状细胞和一些内皮细胞。它们与其他动物的免疫应答基因的产物有同质性。

在排斥反应中，Ⅰ类和Ⅱ类抗原引起不同的应答。对Ⅰ类和Ⅱ类抗原应答的 T 淋巴细胞不仅能从功能上予以区别，而且能根据应答 T 细胞表面的分化抗原来区别。应用单克隆抗体（由杂交细胞产生的完全相同的抗体）与分化抗原相互作用可作为监视排斥反应中 T 细胞亚群的标志。与Ⅰ类抗原起反应的淋巴细胞所表达的是 CD8 抗原，通常与细胞毒效应细胞和抑制细胞功能有关。而与Ⅱ类抗原反应的淋巴细胞表达 CD4 抗原，通常是具有辅助细胞功能活性的 T 淋巴细胞。因而，在排斥反应中所发生的冲击性免疫破坏由抗 HLA 抗体和细胞毒效应淋巴细胞所致并直接针对Ⅰ类抗原，而对Ⅱ类抗原应答的淋巴细胞看来是促成最大排斥反应所必需的。

然而，在同种移植应答中，HLA 抗原的存在并不仅限于当作靶子。在正常的免疫应答中，自身的 HLA 分子会结合外源性多肽，并将这些抗原提呈给 T 细胞表面的特异性抗原受体。由于 HLA 分子呈高度多态性，在一个移植器官的细胞表面，其同种 HLA 分子在被 T 细胞受体识别时并不认为是自身的 HLA，而以同样方式作为自身 HLA＋外源性多肽。T 细胞受体结合了移植物 HLA 单独并不会引起同种移植的应答。在体内有一些显示抗原提呈细胞功能的特殊细胞，在与抗原接触时会递交 T 细胞第二个信号。树突状细胞是一种巨噬细胞样的细胞，具有抗原递呈的作用。随着抗原提呈细胞上的抗原与 T 细胞受体相结合，使 T 细胞激活。此时在细胞内发生一连串复杂的变化，导致与Ⅱ类抗原反应的 CD4 阳性辅助 T 细胞中多数先前静止

的基因发生转录。激活过程的中心是产生白介素 - 2（IL - 2），并在这种辅助细胞表面表达 IL - 2 受体。IL - 2 以自分泌/旁分泌方式刺激 T 细胞增殖，激活的辅助 T 细胞也产生一系列其他的淋巴因子；这些淋巴因子促进连锁的变化，导致移植物破坏的效应机制。

Ⅰ类和Ⅱ类抗原非移植的相关性：有越来越多的证据表明，编码这些抗原的基因（以及 MHC 内紧密连锁的其他基因），对于个体的一般免疫功能和健康有特别重要的意义。与 MHC 连锁的基因控制几种补体成分和 B 因子。其次，特异性 HLA 抗原与各种推断的自身免疫疾病以及淋巴样细胞肿瘤有统计学意义的相关；然而这种相关在发病学上的意义尚未明了。例如关节强硬性脊椎炎和 Reiter 综合征与 B27 基因型呈明显正相关。DR3 和 DR4 似与Ⅰ型糖尿病呈正相关，DR2 与多发性硬化以及 DR4 与类风湿性关节炎呈正相关。从移植的角度而言，最近关于 DR6 与控制同种移植肾排斥的 Ir 基因相关的假设，也许是更为引人注意的。

（二）次要组织相容性抗原

研究表明，mH（次要组织相容性抗原）抗原由等位基因变异的细胞蛋白肽构成，引起细胞介导的移植物排斥反应，但不具有 MHC 抗原结构。mH 抗原的名称本身就暗示这些抗原单独刺激仅引起微弱的排斥反应。主要包括两类：①与性别相关的 mH 抗原，1995 年，Eichward 和 Silmser 发现某些近交系小鼠或大鼠中，来源于雄性供者的移植物可被同系雌性受体排斥，而来源于雌性供者的移植物可被同系雄性受者所接受，故二者不相容的最合理解释是 Y 染色体。②由常染色体编码的 mH 抗原，在人类包括 HA - 1 ~ HA - 5 等。有些可表达于所有组织细胞，有些进表达于造血干细胞和白血病细胞。

在 HLA 全相同的供、受者之间进行移植所发生的排斥反应，主要由 Mh 抗原所致。因此，临床移植中应在 HLA 型别相配的基础上兼顾 mH 抗原，以期获得更好的疗效。

（三）血型抗原

血型抗原是糖蛋白呈现在红细胞和其他类型细胞表面的糖类决定簇。有三个主要血型抗原即 O，A 和 B，各自起源于一个单一的糖类主要成分，几种血型抗原基因编码糖基化酶，修饰不同的酶解物。O 型个体表达未被修饰的核；A 型表达一个附加外糖；B 型表达另外一个附加糖；AB 型具有两者附加糖分子的酶。对血型抗原的 B 细胞反应和抗体。AB 血型的人，对其他血型抗原不形成抗体；O 型血的人，产生抗 A，抗 B 抗体；A 型和 B 型血的人，仅彼此对对方的抗原产生抗体。

对器官移植而言，仅需考虑 ABO 抗原，因为这些抗原是在血管内皮上

表达的唯一抗原，这些抗原可能成为受者原已存在的抗体的靶子，从而损伤植入的器官。因此，实质器官的移植，要求交叉血型配伍良好，应是移植免疫的一般原则。

二、移植排斥的免疫学基础

同种异基因器官移植后，由于供、受者之间的组织相容性抗原不同，它们可以刺激相互的免疫系统，引起宿主抗移植物或移植物抗宿主的移植排斥。在实体器官移植中，移植物中完整的活细胞。脱落的细胞，或由于移植前灌洗不彻底而残留在器官中的淋巴细胞（又称过客淋巴细胞，Passengerlymphocyte）都可以是启发免疫应答的抗原。移植抗原诱发的细胞免疫和体液免疫应答都参与排斥过程。

三、介导同种异体排斥反应主要细胞组分

移植免疫中免疫反应的激活 B 细胞和 T 细胞是对移植组织起反应的两种主要成分，参与这一反应的其他成分还有骨髓移植患者的自然杀伤细胞（Natural killer cells，NK 细胞）和各种非特异细胞群体，如巨噬细胞等。

（一）B 细胞

B 细胞产生的抗体在移植排斥反应中起重要作用，它直接对抗供者的血型抗原或供者的 MHC 抗原。血型抗体产生在生命的早期阶段，而抗 MHC 抗体的产生则需要另一个体组织暴露，该个体可能发生在妊娠期间、输血或器官移植。最初参与对血型抗原和 MHC 抗原反应的抗体主要是 IgM，如果有活化的 T 细胞参与，B 细胞趋向于转向不同的 IgG 产物。B 细胞在移植中反应的主要特征取决于抗供者抗体出现的时间：①如果抗体在移植前就存在，可能引起超急性排序反应。②如果抗体在移植中迅速出现，可能引起快速血管排斥反应。③如果抗体出现在移植之后数周或数月，可引起慢性排斥反应。在移植之前，测定患者是否已存在抗供者 MHC 抗体的技术，称为交叉配型（Cross match）。将供者淋巴细胞与受者血清共同孵育，然后加入兔补体，如果供者的细胞溶解，称为交叉配型阳性，意味着移植术后有发生超急性排斥反应和快速血管排斥反应的风险。因此，血型配伍障碍和交叉配型阳性者，是器官移植的禁忌证。

值得注意的是抗体在移植排斥中的作用也十分重要且复杂。它可以通过传统的途径，即活化补体和 ADCC 作用参与移植排斥。在某些性况下，也可以起到封闭抗体的作用，保护移植物不受排斥。

（1）抗体激活补体参与移植排斥。抗体与移植抗原结合后，可以激活

补体，直接破坏靶细胞；同时也可通过补体—血凝系统的活化，导致血管扩张，通透性增加，多形核白细胞的趋化浸泣润，血小板凝集，血栓形成等一系列病理性变化，导致移植器官被排斥。参与这种作用的抗体主要是 IgM 类抗体，超急排斥中最为典型，在肾移植中最为常见。

（2）抗体通过 ADCC 作用参与移植排斥。抗体与移植物结合后，可通过其 Fc 段与具有 IgGFc 受体的 K 细胞、单核巨噬细胞结合，导致它们活化，直接破坏移植的器官。参与这种 ADCC 作用的抗体是 IgG 的某些亚类，如 IgG2。

（3）增强抗体与移植排斥。抗体除参与移植排斥外，在某些情况下可保护移植物不被排斥，这种抗体称为增强抗体（Enhancing antibody）。增强抗体可与植入组织上的抗原结合，但不激活补体，也不引起细胞毒效应，却可阻断其他抗体或 T 细胞与这一抗原决定簇结合，从而对移植物起到保护作用，因此此类抗体又称为封闭抗体（Bioking antibody）。

（二）T 细胞

有两类主要的 T 细胞参与移植物的排斥反应。$CD4^+$ T 细胞直接对异基因 MHC Ⅱ类抗原起反应，或对自体Ⅱ类分子的修饰型起反应。$CD8^+$ T 细胞能直接对异基因的 MHC Ⅰ类分子起反应，或对自身Ⅰ类分子修饰型起反应。$CD4^+$ T 细胞是启动移植物排斥反应的主要细胞，一旦缺乏，将不会发生移植物排斥。$CD8^+$ T 细胞绝大多数是细胞毒性 T 细胞、巨噬细胞和 B 细胞，在移植物排斥反应的主要作用是直接溶解供者细胞。激活的巨噬细胞和 $CD4^+$ T 细胞通过迟发性超敏反应引起移植物排斥。

T 细胞的完全激活需要两个独立且有协同作用的信号：第一信号由抗原提供，第二信号即共刺激信号，由 APC 的共刺激分子提供。APC 包括巨噬细胞和树突状细胞。树突状细胞在不同的器官有特殊的名称，如在皮肤，称朗格汉斯细胞（Langerhans cells）；在肝则称库普弗细胞（Kupffer cells）。其他的Ⅱ型细胞 - B 细胞和内皮细胞，在某些情况下也可能有抗原提呈功能。

移植物表达的供者同种异体 MHC 分子引起两种抗原识别——直接识别和间接识别。受者 T 细胞识别在供者细胞表面的高密度同种异体 MHC 分子，结合在供者 MHC 分子上的同源肽，在同种异体 MHC 直接识别中起主要作用。间接识别时，供者 MHC 的降解肽段被受者 APC 上的自身 MHC 以递呈外源性细胞或病毒抗原的方式进行递呈。急性排斥时，激烈的免疫反应主要由直接识别引起而间接识别主要在慢性排斥反应中起作用。

第三节　移植排斥的预防与治疗

尽管关于治疗急性排斥反应最适当的药物和治疗持续时间还存在争论，但迅速和正确诊断的重要性几乎没有异议。其主要依据取于排斥反应的轻重程度和植入的器官。而为提高移植成功率，减轻或延缓移植排斥反应，除了提高外科手术水平，防止感染外，主要措施是移植前组织配型和移植前、后免疫抑制疗法及各项免疫学与组织学指标的监测。

一、HLA 配型

器官移植的供、受者之间组织相容性程度越高，器官存活的机率就越大。因此，在器官移植前，慎重选择供者是至关重要的。一般供者的 ABO 血型必需与受者一致，这是比较容易做的。此外，供者的 HLA 组织型别也应尽可能与受者相近。一般有亲缘关系供、受者之间 HLA 型别相近的机会大得多。HLA 配型一般是鉴定供、受者的 HLA 表现型，即检查 HLA 抗原。近年来，随着分子生物学的发展，HLA 的 DNA 定型法也已发展起来。

二、免疫抑制

采取免疫抑制措施可以有效地抑制植排斥的发生。

（一）免疫抑制药物

免疫抑制药物的应用，促进了人体器官移植的发展。20 世纪 60 年代，由于硫唑嘌呤的问世，使器官移植存活率有了很大的提高。这个时期，硫唑嘌呤、皮质激素以及抗人胸腺细胞球蛋白的应用，使肾、肝、心移植都能在临床开展起来，并取得了部分成功。70 年代末，由于新一代高效免疫抑制剂环孢素 A（GsA）的出现，使各种器官移植有了突破性的进展。CsA 不但具有更强的免疫抑制作用，而且可以相对选择性地作用于 T 细胞。因此，从 1978 年以后，CsA 已广泛应用于临床器官移植。GsA 与其他免疫抑制药物联合应用，可以提高作用效果，且可以减少 GsA 的用量，减少毒副作用。近年来，临床采用 GsA 与强的松二联疗法，和用 GsA 与强的松和硫唑嘌呤的三联疗法，以及 CsA 与强的松、硫唑嘌呤和抗人胸腺细胞球蛋白和四联疗法，都取得了很好的效果。80 年代初期发现的另一种真菌代谢产物 FK-506，具有比 CsA 更强的免疫抑制作用和相同的靶细胞选择性。目前，FK-506 已应用于临床肾、肝、心以及心肺移植中，并发现与 CaA 合用效果更佳。

（二）抗胸腺细胞球蛋白和抗 T 细胞单克隆抗体

抗胸腺细胞球蛋白抗 T 细胞单克隆抗原可与 T 细胞结合，通过活化补体去除 T 细胞。抗 CD3 单抗还可以阻止 T 细胞识别移植抗原，防止移植排斥的发生。这二种抗体在临床上已得到广泛应用。

（三）输血效应

由于担心受者被 HLA 抗原及其他抗原致敏，发生超急排斥，所以多年来曾禁止给移植受者输血。后来发现，移植前接受输血的病人，肾移植存活时间可明显延长。20 世纪 80 年代，进一步的临床实验研究证明了这种观察结果。此后，在许多移植中心都采取了预输血的方案。但其作用的机制目前还不是十分清楚。

三、移植耐受的诱导

长期使用免疫抑制剂来防止移植排斥会产生许多严重的副作用。所以，解决移植排斥的根本方法，是诱导供、受体间的免疫耐受。近年来，移植耐受的研究已取得了许多重要的进展，主要有以下几种诱导耐受的方法。

（一）用照射的方法诱导耐受

1. 全淋巴照射（TLI）

小鼠经全淋巴照射后输入大量异基因骨髓，可形成不同程度的嵌合体。由于异基因骨髓在受体内分化、发育，并经过胸腺的选择，可以导致耐受的产生。所以嵌合体的水平越高，移植物存活时间越长。这种模式已应用于临床肾移植，可减少免疫制剂的用量。

2. 紫外线照射

用紫外线照射小鼠，同时在照射部位涂布抗原，可以灭活朗格罕细胞的抗原呈递功能，使其对相应抗原的细胞免疫反应下降；胰岛移植前，将供体的血液用紫外线照射后输给受体，可诱导免疫耐受，使以后植入的胰岛长期存活；异基因骨髓移植前经紫外线照射也可以降低 GVHR。

（二）药物诱导耐受

1. 环磷酰胺（CY）诱导耐受

从静脉注射供体脾细胞，48 h 后腹腔注射 CY 的方法，可诱导 H－2 不同的受体小鼠产生不完全耐受。其表现为对供体细胞的特异性免疫应答降低，MLR 和 CTL 活性明显抑制，DTH 反应也明显降低，并可接受供体来源的肿瘤细胞不被排斥，但对供体的皮肤移植物仍会排斥，只是排斥期延长，在 H－2 相同，而只有次要组织相容性抗原不同的品系间，这种方法则可诱导完全耐受。

2. 环孢素 A（CyA）诱导的耐受

对家兔的肾移植研究发现，短期应用 CsA 并进行肾移植后 6 个月，无关第三者的皮肤可被迅速排斥，而来自肾移植供者的皮肤可以稳定植活。CsA 诱导的耐受大多为诱导 Ts 细胞。

移植耐受的研究已经取得了许多重要进展。近来研究证明，不但未成熟的 T 细胞在胸腺内可经程序性死亡途径导致克隆排除，成熟的 T 细胞也可经此途径导致克隆排除，因此，移植耐受的研究必将对器官排斥的最终解决作出贡献。

第十一章 免疫缺陷性疾病

免疫缺陷病是指免疫系统因先天发育不全或后天因各种因素所致损害而使免疫活性细胞的发生发展、分化增殖和代谢异常并引起免疫功能不全所出现的临床综合征。患者临床表现为容易反复感染、出现自身免疫现象和易导致肿瘤的发生。

第一节 免疫缺陷病概述

免疫缺陷病现已成为临床上一组极重要常见病，尤多见于儿科和内科。自1981年美国报道第一例获得性免疫缺陷综合征 $CD8^+$（Acguried immunodeficiency syndrome，AIDS，艾滋病）以来，获得性免疫缺陷的重要性已远远超出了医学领域。由于实验技术的进步，75%以上的免疫缺陷病已可确诊，但有些免疫缺陷病的发病机制仍不甚清楚。

一、免疫缺陷病的一般特征

免疫缺陷病主要特点是易感染，且为反复发作、难治性、迁延不愈和低致病力病原体感染；其次是患者的恶性肿瘤，自身免疫病和变态反应性疾病发病率都明显增高。

（一）易感染

免疫缺陷者的最主要、最常见和最严重的后果是机体对病原体的高度易感性。年龄越小的患者，感染频率越高，病情也越重。感染的部位主要是以呼吸道最常见。感染的表现，可为反复的或持续的，急性的或慢性的，两次感染之间无明显间隙。免疫缺陷者的易感性还表现在患者对体内正常微生物群以及空气、土壤和水等环境中无致病力或致病力很弱的微生物均易感。

（二）免疫缺陷病在临床和病理学上级富多样性

免疫缺陷病具有高度异质性，表现在：不同免疫缺陷病由免疫系统不同组分缺陷引起，因而其症状各异；免疫系统的某个环节功能缺陷可导致多系统功能障碍，因此其症状更是多样；同样疾病在不同患者中临床表现也不同。免疫缺陷时可累及呼吸系统、消化系统、造血系统、内分泌系统、骨关节系统、神经系统和皮肤黏膜等，并出现相应功能障碍症状。

（三）伴发恶性肿瘤、自身免疫病和变态反应疾病

免疫缺陷患者其恶性肿瘤、自身免疫病和变态反应疾病发病率均明显高于正常人群。据世界卫生组织（WHO）报告，在T细胞免疫缺陷的原发性免疫缺陷病患者中，恶性肿瘤的发病率比正常同龄人群高100～300倍，以白血病和淋巴系统肿瘤居多。自身免疫病在正常人群的发病率约为0.001%～0.01%，而在免疫缺陷者，特别是原发性免疫缺陷病患者中发病率可高达14%。

（四）具有遗传倾向性

多数原发性免疫缺陷病有遗传倾向性，属于常染色体遗传的比例约为1/3，另1/5为性染色体隐性遗传，因此在15岁以下的原发性免疫缺陷病患者中，男性占到了80%以上。

（五）发病年龄

约50%以上的原发性免疫缺陷病从婴幼儿就开始发病。例如Digeorge综合征（又称先天性胸腺发育不全）在出生后24～48 h发病，严重联合免疫缺陷病出生后6个月内发病，X－性联低丙种球蛋白血症（又称Bruton病）在出生后6～8个月内发病，患者年龄越小，病情越重，治疗难度也越大。

二、免疫缺陷病的分类

免疫缺陷病按照发病的原因可分为先天性或原发性免疫缺陷病（Primary immunodeficiency disease，PIDD）和后天的或获得性免疫缺陷（Secondary immunodeficiency disease，SIDD）两大类型。PIDD是由于遗传因素或者先天性免疫系统发育不良造成的免疫功能障碍引起的疾病。据估计，在美国大约有1/500的个体出生时有免疫系统某些成分的缺陷；SIDD是由于后天因素造成的免疫功能障碍而引起的疾病，其中最突出的是人类免疫缺陷病毒（HIV），即获得性免疫缺陷综合征（AIDS）的病原体。

三、免疫缺陷病的治疗

通常采用对症治疗。

第二节　原发性免疫缺陷病

原发性免疫缺陷病主要是由于免疫系统的遗传基因异常导致的，根据所涉及的免疫细胞或组分可分为特异性免疫缺陷和非特异性免疫缺陷两大类：

其中特异性免疫缺陷又可分为体液免疫缺陷、细胞免疫缺陷和联合免疫缺陷等；非特异性免疫缺陷包括补体免疫缺陷、吞噬细胞免疫缺陷等。相应的疾病种类也很多，而且临床上主要以婴幼儿发病居多。

一、原发性 B 细胞缺陷病

原发性 B 细胞缺陷病是由于 B 细胞发育和（或）功能异常所致，约占原发性免疫缺陷病的 50% ~70%，以免疫球蛋白水平的降低或缺失为主要特征，常因 B 细胞发育、分化和增殖受阻，或 Th 细胞功能异常，引起抗体合成或分泌缺陷。免疫球蛋白缺陷可以是某一类或亚类，甚至是全部五种 Ig 的缺乏，一般可分为 3 种类型：各类免疫球蛋白均缺陷，选择性缺乏某类或某亚类免疫球蛋白，总血清免疫球蛋白量正常或稍低，但特异性抗体反应低下。由于血清免疫球蛋白测定的常规化，这类疾病诊断已经较容易。

（一）X 连锁无（低）丙种球蛋白血症

X 连锁无（低）丙种球蛋白血症首例病于 1952 年由 Bruton 报道，故亦称 Bruton 低丙种球蛋白血症，为最常见的先天性 B 细胞免疫缺陷病。多见于男性婴幼儿，以血循环中缺乏 B 细胞及 γ 球蛋白为主要特征，为最常见的先天性 B 细胞免疫缺陷病。

在 B 细胞活化的早期，B 细胞胞浆中所特有的 Bruton 酪氨酸蛋白激酶（Bruton's tyrosine Kinase，BtK）被磷酸化，与 G 蛋白、Src 家族成员结合，参与细胞内活化信号的传递。BtK 基因定位于 Xq22 染色体上。BtK 基因发生突变将影响前 B 细胞的分化成熟。在性联低丙种球蛋白血症患者中发现的 BtK 基因突变种类超过 118 种。该病属 X－连锁隐性遗传，多发生于男性，该病由一条染色体上携带有缺陷基因，经表型正常的母亲传给其儿子。病儿在出生后 6 ~8 个月起发病，临床表现为反复持久的化脓性细菌（如肺炎球菌、链球菌、嗜血杆菌等）感染。因为患者机体内的前 B 细胞不能分化为 SIgM 阳性的 B 细胞，所以血清中缺乏 IgG（<2 g/L）、IgM、IgA、IgD 和 IgE，患者血循环和组织中没有成熟的 B 细胞，淋巴结中没有生发中心，组织中无浆细胞。患者接种抗原后不产生抗体应答，但因 T 细胞功能和数量正常，对病毒、真菌等细胞内寄生物有一定抵抗力。该病的治疗主要依赖免疫球蛋白的替代治疗和抗生素的运用。

（二）选择性免疫球蛋白缺陷

（1）选择性 IgA 缺陷。这是最常见的一种选择性 Ig 缺陷。发病率约 1/700，常染色体显性或隐性遗传。但有些病人则是胚胎期风疹病毒感染或接触药物造成，血清 IgA 水平 <50 μg/Ml，IgM 和 IgG 水平正常或略高。表

达 IgA 的 B 细胞不能分化成分泌抗体的浆细胞，但 α 链基因和膜 IgA 表达均正常。

（2）选择 IgM 缺陷。大多由 B 细胞分化异常引起，其 IgM 抗体多属自身抗体，能与自身细胞对 TH 细胞的刺激无反应。

（3）选择性 IgG 亚类缺陷。大多由 B 细胞分化异常引起，少数因不同恒定区基因缺失所致。

（4）IgM 升高的 IgG 和 IgA 缺陷。此缺陷为性联遗传病，其 IgM 抗体多属自身抗体，能与自身血细胞反应。病人 IgG 和 IgA 重链转换有障碍。

二、原发性 T 细胞缺陷疾病

单独的 T 细胞免疫缺陷病较为少见。在大多数病人中，缺陷的 T 细胞免疫常伴随有 B 细胞免疫异常，因为在抗体形成的过程中，T、B 细胞之间存在相互调节作用。虽然有些 T 细胞缺陷的病人免疫球蛋白水平正常，但对抗原的刺激却不产生特异性抗体，这种病人对胞内菌的易感性增高。

（一）DiGeorge 综合征（先天性胸腺发育不良）

此先天性选择性 T 细胞缺陷系妊娠早期第三、四咽囊发育障碍，致使胸腺、甲状旁腺、主动脉弓、唇和耳等发育不良。因 T 细胞不能成熟而致细胞免疫缺陷、低血钙、肌肉颤搐，大血管和面部畸形等。血中 T 细胞缺乏或大量减少，但抗体水平基本正常。患者对胞内寄生菌、病毒和真菌易感。胚胎胸腺移植有效，但 T 细胞可能在胸腺外组织中成熟，故随年龄增长病性可自然缓解，5 岁前常可恢复正常。无胸腺的裸鼠是 T 细胞选择性缺陷的天然动物模型。

（二）T 细胞活化和功能缺陷

近年才有关 T 细胞活化和功能缺陷的报道，其机制可能有：T 细胞受体复合物（TCR/CD3）表达缺陷；TCR/CD3 复合物信号传导异常；IL－2 和 IFN－γ 等细胞因子产生缺陷；IL－2 或 IL－1 受体表达缺陷。

三、T 和 B 细胞联合缺陷性疾病

（一）严重联合免疫缺陷

严重联合免疫缺陷病（Severe combined immunoideficiency disease, SCID）是因干细胞分化缺陷而表现 T、B 细胞减少，体液和细胞免疫均缺陷。出生 6 个月起发病，对各种类型感染均易感。

在各种 SCID 中，最常见的是性染色体连锁遗传的严重联合免疫缺陷病，约占整个 SCID 病例的 50%。SCID 病人的主要免疫学特征表现为：T 细

胞缺乏或数目的显著下降；B 细胞数目正常而功能却异常，在病人的 B 细胞上发现有 Pre - B 的特异性标志 P120 抗原，表明患者的 B 细胞亦存在成熟障碍。

根据 IL - 2R 的亲和力大小可将其分为三类，低亲和力 IL - 2R 含有 IL - 2Rα 链，中等亲和力 IL - 2R 含有 IL - 2Rβ 链和 γ 链，高亲和力 IL - 2R 则含有 α、β、γ 三条链。研究表明 IL - 2Rγ 链是构成核心信号受体的重要组分，涉及配体的内在化及信号的转导。通过遗传学分析及分子克隆技术已证实人 IL - 2Rγ 链基因定位于 Xq13。IL - 2Rγ 链不仅参与 IL - 2R 的组成，而且是 IL - 4R、IL - 7R 的组成部分，所以又将其命名为共同 γ 链（Common γ chain，γc）。IL - 4 是 B 细胞生长因子、IL - 7 是前 B 细胞和胸腺细胞的生长因子。它们均通过和其相应的受体结合而发挥作用，所以 SCID 病人的 X 染色体上 IL - 2Rγ 链基因的突变，使得共同 γ 链不能正常表达，IL - 2R、IL - 4R、IL - 7R 缺陷，导致 T、B 细胞的成熟受阻，从而形成 SCID。

（二）Wiskott - Aidrich 综合征

Wiskott - Aidrich 综合征为性联隐性传缺病。特点为：湿疹、血小板减少和感染三联症。患者膜蛋白糖苷化障碍，故 CD43 等表达间障碍。随年龄增长，病情加重，淋巴瘤发病率增加。胸腺移植和胸腺因子治疗可达到完全或部分免疫重建。

（三）伴有酶缺陷的联合免疫缺陷

伴有酶缺陷的联合免疫缺陷均为常染色体隐性遗传病，包括腺苷酸脱氨酶缺乏和嘌呤核苷磷酸化酶缺乏所致联合免疫缺陷，后者较少见。腺苷脱胺酶（Adenosine deaminase，ADA）基因定位于第 20 对染色体，该基因的缺失或突变，导致 ADA 缺乏。ADA 分布广泛，在淋巴细胞内特别丰富，活性最高。ADA 缺陷将导致腺苷、脱氧腺氨、dATP 在细胞内聚积。这些代谢产物进一步抑制核苷酸还原酶活性和 S - 腺苷同型半胱氨酸水解酶，使 S - 腺苷同型半胱氨酸增多，抑制甲基转移反应，影响 RNA、DNA、蛋白质和磷脂的合成。腺苷的积聚导致细胞内 cAMP 增加，抑制淋巴细胞功能，尤其是影响 T 细胞。本病患者的 T、B 细胞均受损，但对 B 细胞的影响较轻。

四、吞噬细胞缺陷病

（一）慢性肉芽肿病

本病绝大多数是性联隐性遗传病，表现为中性粒细胞的功能不全，其主

要临床特征为反复发作的化脓性感染。感染的细菌大多为过氧化氢酶阳性菌，如表皮葡萄球菌、沙雷氏菌等。因为患者的中性粒细胞缺乏 NADH 或 NADPH 氧化酶，而使胞内过氧化氢、单线态氧、超氧阴离子等的量很低，导致氧依赖性杀菌功能减弱。细菌被中性粒细胞吞噬，以此得到细胞的保护，不受抗体、补体、抗生素的影响，从而使其在细胞内繁殖，并随吞噬细胞游走引起感染的播散，形成反复发作的化脓性感染，在淋巴结、肝、脾、肺、骨髓内形成肉芽肿性病灶或伴有瘘管形成。本病可利用定量四氮唑蓝（NBT）试验和吞噬细胞杀菌试验进行确诊。

（二）白细胞黏附缺陷

白细胞黏附缺陷（Leukocytead hesion deficiency，LAD）者有细菌和真菌反复感染，伤口难愈。依赖于黏附作用的白细胞功能有异常。骨髓移植和基因治疗有效。

（三）Chediak - Higashi 综合征

为常染色体隐性遗传病，有反复化脓菌感染，眼、皮肤白化病和各器官有淋巴细胞浸润。中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞含巨大胞浆颗粒，白细胞和单核细胞的溶酶体、黑素细胞、神经系统细胞和血小板均被殃及。引起胞浆颗粒融合失控的分子机制尚不明。

五、补体系统缺陷病

补体是人血清中一组具有重要非特异性免疫功能的蛋白质，由 9 个成分组成。临床上可见与各种单一补体组分缺陷、补体掐制物缺陷、补体活化中某些因子缺陷及补体受体缺陷有关的病征。动物的遗传性补体系统缺陷病有 3 种类型：①犬和豚鼠 C3 缺乏；②C3 转化酶形成缺陷，如豚鼠 C2 缺乏；③小鼠 C5 缺乏和兔 C6 缺乏所致的顺序溶解相（C5 ~ C9）缺陷。

第三节　继发性免疫缺陷病

继发性免疫缺陷病，亦称获得性免疫缺陷，主要指发生在其他疾病基础上或因某些理化因素所致的免疫功能障碍。它与原发性免疫缺陷病相比，具有发病率高的特点，后天获得性和见于各年龄组人群等的特点。引发继发性免疫缺陷病的常见原因包括感染、肿瘤、营养不良、蛋白合成不足或消耗增加，使用有抑制免疫功能的药物，以及电离辐射、手术麻醉、脾切除、中毒、妊娠、老年等状态中。继发性免疫缺陷病多数是暂时性的，消除病因后能够恢复。少数继发性免疫缺陷病则不容易恢复，如由人类免疫缺陷病毒引

起的获得性免疫缺陷综合征。

引发继发性免疫缺陷病的常见原因包括感染、肿瘤、营养不良、蛋白合成不足或消耗增加，使用有抑制免疫功能的药物，以及电离辐射、手术麻醉、脾切除、中毒、妊娠、老年等其他原因。继发性免疫缺陷病多数是暂时性的，消除病因后能够恢复。少数继发性免疫缺陷病则不容易恢复，如由人类免疫缺陷病毒引起的获得性免疫缺陷综合征（AIDS）。

一、获得性免疫缺陷综合征

获得性免疫缺陷综合征（Acquired immunodeficiency syndrome，AIDS）又称为艾滋病，1981 年首例 AIDS 患者被发现，1984 年证实由人类免疫缺陷病毒（Human immunodeficiency virus，HIV）引起，现已在全世界广泛流行。该病的主要特征是以人的 $CD4^+$ T 细胞减少为主，同时伴有反复机会感染、恶性肿瘤以及中枢神经系统退行性病变。美国疾病控制中心报告，1992 年每 100 个男性公民和每 800 个女性公民中各有 1 人已感染了 HIV。仅 1992 年内美国 HIV 新感染者达 4～8 万例。就全世界而言，约每 13 秒钟就有 1 个新感染者，每 9 分钟有 1 人死于 AIDS。到 2000 年，全世界 HIV 感染者将达 3 000 万～1 亿，其中儿童约 1 000 万。据 WHO 估计，1993 年中，感染 HIV 的青年和成年人已达 1300 万。现在感染人数上升最多最快的是亚洲特别是南亚和东南亚，如在泰国，求医的性病患者中，HIV 感染率从 1989 年的 0% 上升到 1992 年的 6%；到 1992 年底，在泰国，一般人群中 HIV 感染在北方地区为 4%。我国 HIV 感染者已达 1000 多人，主要集中在云南边境地区。WHO 估计，到 2000 年，全世界 HIV 新感染者 90% 将在发展中国家。在全世界的 HIV 主要是 HIV－1。但在非洲特别是西非已从 AIDS 病人中分离出几株 HIV－2，欧洲、南美和美国等也有 HIV－2。临床表现为胃肠症状、神经系统疾病和免疫缺陷。

（一）传播方式

AIDD 为传染性性病，其传播方式主要有三，以性接触最为主要。

1. 性接触

（1）同性恋和（或）双性恋约占 70% 病例。男同性恋者 HIV 感染率甚高，尤以有色人种居多。HIV 感染者精液中的 HIV 经直肠黏膜传给健康的同性性伴。

（2）异性恋约占 4% 病例。精液中的 HIV 感染细胞与子宫腔中 Mφ、淋巴细胞、上皮细胞相互作用而使女方感染。阴道分泌物中的 HIV 感染细胞能将 HIV 传给男性尿道口中的 Mφ、淋巴细胞、上皮细胞相作用而使女方感

染。阴道分泌物中的 HIV 感染细胞能将 HIV 传给男性尿道品口中的 Mφ 或淋巴细胞。

2. 注射途径

(1) 输血。约占 2. 5% 病例，HIV 感染者的血液、血浆中的游离 HIV 特别是病毒感染血细胞可使受血者被感染。在发达国家，HIV 的检测已成为输血前的常规。但接解尚未能测出抗 - HIV 抗体的新近 HIV 感染者的血液仍有传染 HIV 的危险，因 HIV 感染后 1 周至 3 个月才能测出相应抗体。

(2) 血制品。约占 1% 病例，输注带有或污染有 HIV 的人血清白蛋白、Igs 和抗凝血因子等可染上 HIV。我国已有数例血友病人因注射进口抗凝血因子浓缩物而感染 HIV。

(3) 静脉毒瘾者。因共用污染有 HIV 的针头和注射器而被感染约占 18% 病例。据报道曼谷静脉注射毒品者 HIV 阳性（HIV（+））率达 40% 以上。我国云南边境 HIV（+）者也多以此途径被染。

3. 母婴垂直传播

HIV 可经胎盘和母乳传递给下一代。HIV 感染者各种体液中大多能分离出游离 HIV 或感染细胞。

（二）HIV 的特征

HIV 属于反转录病毒科的慢病毒属，其基因组由两条相同的 RNA 链通过 5′端的氢键结合。HIV 的蛋白主要包括核心蛋白、包膜蛋白等，即主要有 gp120 和 gp41。HIV 主要包括两型，即 HIV - 1 和 HIV - 2，二者核苷酸和氨基酸序列有所不同，但是基因结构相似，每一个型别的 HIV 可以诱导机体产生一种抗体，这导致 HIV 感染的保护性抗体难以具有一致性。

（三）HIV 的免疫致病机制

AIDS 的免疫学异常主要是由 $CD4^+$ T 细胞数量显著降低和细胞免疫功能下降所致。HIV 感染 $CD4^+$ T 细胞后，在胞内大量复制，大量病毒体聚集导致细胞死亡，加上 HIV 感染细胞表面表达的 gp120 分子与未感染细胞表达的 CD4 分子结合，导致细胞融合形成多核巨细胞，以及通过 HIV 抗体和 gp120 特异性 CTL 对 HIV 感染的靶细胞的攻击，导致 CD4 阳性细胞进行性减少，CD4/CD8 细胞比例下降，甚至倒置。HIV 病毒感染不仅使 CD4T 细胞数量明显下降，还抑制 T 细胞的激活和应答能力，使患者淋巴细胞转化率下降。

AIDS 病人的 B 细胞常被多克隆性激活，血清 Ig 水平明显增高，自身抗体水平增高。这可能是因为 HIVgp120 本身属超抗原，加上 HIV 感染者易合并感染 EBV，造成多克隆 B 细胞激活。由于 B 细胞本身功能紊乱和缺乏 TH

细胞的辅助功能，患者对抗原的特异性应答能力降低。

HIV 感染单核—巨噬细胞，将损伤其趋化、杀菌能力，同时引起细胞表面 MHC Ⅱ类抗原表达减少，抗原提呈能力下降。HIV 感染巨噬细胞，能诱导细胞分泌大量 IL－1 和 TNFα，导致患者长期低热，进而引起恶液质。AIDS 患者的 NK 细胞功能也降低，从而更加降低了机体抵抗病毒感染和抗肿瘤免疫能力。

（四）AIDS 的防治

目前对 AIDS 尚缺少有效的治疗方法，主要预防措施是通过开展社会宣传教育，严禁吸毒，加强性教育，以控制性传播。对血及血制品进行严格的检查管理，减少医源性的传播机会。加强对高危人群和献血员的 HIV 抗原抗体检测。

HIV 疫苗正在研制中，但由于对 HIV 的致病机制和宿主对 HIV 的免疫应答了解仍不多，加上 HIV 抗原变异性很大，给疫苗研究带来较大困难。目前已用于治疗 AIDS 的疫苗有：减毒活疫苗、重组活疫苗、灭活疫苗、亚单位疫苗等。但是还没有特效的抗 HIV 药物。用逆转录酶抑制剂叠氮胸腺嘧啶（Azidothymidine，AZT）仅可延长病人的无症状期，用可溶性 CD4 干扰病毒的扩散只取得了有限的疗效。AIDS 的防治仍存在许多问题有待解决，需要科学工作者的共同努力。

二、免疫增生性疾病

免疫细胞在分化发育过程中出现的失控性增生及恶变被称为免疫增生性疾病（Immunoproliferative disease）。该病的发生包括良性增生和恶性增生。

其中恶性免疫增生病的原因主要为病毒感染、化学致癌物、辐射等，还可以与机体的因素相关，如内分泌因素或者免疫功能紊乱。

第十二章　肿瘤免疫

肿瘤（Tumor，neoplasia）是人和动物的常见病、多发病，按其性质和对机体的危害，可以分为两大类：一类是良性肿瘤；另一类是恶性肿瘤。恶性肿瘤为致命性疾病，目前尚无有效的治疗和预防手段。肿瘤免疫学（TumorImmunology）是免疫学深入到肿瘤学研究的一个分支，它是研究肿瘤的发生、发展与机体免疫的关系，以及应用免疫学原理和手段对肿瘤进行诊断、治疗和预防的一门科学。肿瘤的研究历史悠久，早在20世纪初就曾有人设想肿瘤细胞可能存在着与正常组织不同的抗原成分，通过检测这种抗原成分或用这种抗原成分诱导机体的抗肿瘤免疫应答，可以达到诊断和治疗肿瘤的目的，但这方面研究在随后的几十年中没有取得明显的进展。直到20世纪40~50年代建立近交系小鼠后，Gross、Prehn和Main等才以无可辩驳的证据证实化学物质甲基胆蒽（Methylchoanthrene，MCA）诱发的肉瘤存在移植排斥的肿瘤抗原。由于是利用移植方法证实的，所以称为肿瘤特异性移植抗原（Tumorspecifictransplantation antigen，TSTA）。随后，TSTA在其他化学物质、物理因素和某些自发性肿瘤中也相继得到证实，使肿瘤免疫研究推向第一次高潮。

20世纪60年代末提出了免疫监视（Immunesurveillance）的概念，为肿瘤免疫学理论体系的建立打下了基础。免疫监视学说的中心思想是：免疫系统具有一个十分完备的监视功能，能精确地分辨“自己”和“非己”的成分；它不仅能清除外界侵入的各种微生物，排斥同种异体移植物，而且还能消灭机体内突变的细胞，防止肿瘤的生长，保护机体的健康。每当免疫监视功能由于这种或那种原因被削弱时，便为肿瘤的发生提供了有利条件；如果机体不具备免疫监视功能，人类的肿瘤发病率会大大提高。临床也得到了一些支持的证据。原发和继发的免疫缺陷病人（如艾滋病病人、为了防止移植排斥反应而应用免疫抑制剂的肾移植病人等）肿瘤发生率增多。然而，其肿瘤类型仅为淋巴网状肿瘤（网状细胞肉瘤、淋巴肉瘤），其他肿瘤的发生率并无明显增高。70年代单克隆抗体制备技术的建立及T细胞生长因子（即IL-2）的发现，推动了肿瘤免疫诊断技术和肿瘤免疫治疗的发展，特别是80年代中后期，随着分子生物学和免疫学的迅速发展和交叉渗透，对肿瘤抗原的性质及其呈递过程，抗体的抗肿瘤免疫机制等有了新的认识，又

一次显示了肿瘤免疫研究高潮的到来。研究的内容主要集中在：①肿瘤细胞的抗原特性；②宿主对肿瘤细胞的应答；③限制机体对肿瘤产生有效排斥反应的因素；④如何调整免疫系统以达到识别并清除肿瘤的目的。

第一节 肿瘤抗原

肿瘤抗原是指细胞恶性变过程中出现的新抗原（Neoantigen）物质的总称。细胞恶性变过程中由于基因突变或正常静止基因的激活都可以产生新的蛋白分子。这些蛋白质在细胞内降解后，某些降解的短肽可与 MHC Ⅰ类分子在内质网中结合，并共表达于细胞表面，成为被 $CD8^+$ CTL 识别和杀伤的肿瘤特异抗原。此外，某些细胞在恶性变后，可使正常情况下处于隐蔽状态的抗原决定簇暴露出来，成为肿瘤相关抗原，可被 B 细胞识别产生抗肿瘤抗体。目前在动物自发性肿瘤和人类肿瘤细胞表面都发现了肿瘤抗原。下面介绍对肿瘤抗原的两种分类方法：

一、根据肿瘤抗原特异性的分类法

（一）肿瘤特异抗原

20 世纪 50 年代对杂交小鼠的化学和放射诱发肿瘤的研究已经证实，某一个体的肿瘤细胞能表达独特的抗原。尽管在自然发生的人类肿瘤中，独特的肿瘤抗原类似物尚未得到证实，但这种肿瘤抗原模式具有一定的意义。因为，它清楚地证实了免疫系统能特异性地组织恶性肿瘤的生长。这一类研究的典型例子是用化学致癌剂，甲基胆蒽（MCA）涂抹近亲杂交小鼠的皮肤而诱发的肉瘤。这些 MCA 诱发的肉瘤从原发肿瘤的小鼠体内切除并植入同系小鼠后，肿瘤能够生长，甚至引起小鼠死亡。相反，将肿瘤再植入原发小鼠，即引起肿瘤的特异性排斥反应。过继转移实验表明排斥反应主要由肿瘤特异性 CTL 介导的。选择用放射线杀死的某一小鼠的肿瘤细胞，并用以免疫另一同系小鼠。而后将原发肿瘤的活细胞移植到已被免疫的小鼠体内能引起肿瘤移植的排斥反应。

这些实验证实了肿瘤移植排斥反应的特异性免疫应答有两个主要特征，即特异性和记忆性。另外，他们指出 CTL 是抗肿瘤免疫的一个重要效应机制。因为，这个实验的肿瘤抗原是在肿瘤细胞移植排斥反应的基础上确定的，所以称为肿瘤特异性移植抗原（Tymor spicific transplantation antigen，TSTA）或肿瘤排斥抗原（Tumor rejection antigen，TRA）。这些 TSTA 的一个显著特征是它们具有多样性，这反映在免疫系统对不同个体具有特异性。例

如一种 MCA 诱发的肉瘤不能对另一种 MCA 诱发的肉瘤起保护性免疫作用，即使这两种肿瘤都来源于同一小鼠。

以往曾对人肿瘤细胞是否有特异抗原（Tumor specific antigen，TSA）存在争议，但最近已在人黑色素瘤等肿瘤细胞表面证实了存在这类 TSA。它是一个静止基因活化的产物，以 9 个氨基酸的短肽或与 HLA - A1 分子共表达于某些黑色素瘤细胞表面，称为 MAGE - 1，它是第一个证实并清楚其结构的人肿瘤特异抗原。TSA 只能被 $CD8^+$ CTL 所识别，而不能被 B 细胞识别，因此是诱发 T 细胞免疫应答的主要肿瘤抗原。

（二）肿瘤相关抗原

肿瘤相关抗原（Tumor - associated antigen，TAA）是指一些肿瘤细胞表面糖蛋白或糖脂成分，它们在正常细胞上有微量表达，但在肿瘤细胞上存在差别或者是异位表达。属于这类抗原的包括正常细胞基因编码的肿瘤抗原和病毒基因编码的肿瘤抗原。

二、根据肿瘤发生的分类法

（一）致肿瘤的病毒抗原

实验动物及人肿瘤的研究证明，肿瘤可由病毒引起，这些病毒能诱导动物机体发生肿瘤。在肿瘤细胞上常常表达病毒的抗原，即病毒编码的蛋白分子。这是因为肿瘤的基因组中整合有原病毒基因组。所以尽管动物的组织类别或者动物的种类很不相同，只要是同一种致癌病毒诱发的肿瘤都会表达相同的抗原决定簇。例如 EB 病毒（EBV）与 B 淋巴细胞瘤和鼻咽癌的发生有关；有乳头状瘤病毒（HPV）与人宫颈癌的发生有关。EBV 和 HPV 均属于 NDA 病毒，此外能够挚爱的病毒还有 RNA，例如人嗜 T 细胞病毒（HTLV - 1）可导致成人 T 细胞白血病（ATL）。同一种病毒诱发的不同类型肿瘤（无论其组织来源或动物种类如何不同），均可表达相同的抗原且具有较强的抗原性。动物实验研究已发现了几种病毒基因编码的抗原，例如 SV40 病毒转化细胞表达的 T 抗原和人腺病毒诱发肿瘤表达的 ELA 抗原。

（二）化学或物理因素诱发的肿瘤抗原

实验动物的研究证明，某些化学致癌剂或物理因素可诱发肿瘤，这些肿瘤抗原的特点是特异性高而抗原性较弱，常表现出明显的个体独特性。即用同一化学致癌剂或同一物理方法如紫外线、X - 射线等诱发的肿瘤，在不同的宿主体内，甚至在同一宿主不同部位诱发肿瘤都具有互不相同的抗原性。由于人类很少暴露于这种强烈化学、物理的诱发环境中，因此大多数人肿瘤抗原不是这种抗原。

（三）胚胎抗原

胚胎抗原是在胚胎发育阶段由胚胎组织产生的正常成分，在胚胎后期减少，出生后逐渐消失，或仅存留极微量。当细胞恶性变时，此类抗原可重新合成。

胚胎抗原可分为以下两种。

（1）甲胎蛋（α－fetoprotein，AFP）。甲胎蛋白是在胚肝、卵黄囊及胃肠中合成的，早在20世纪50多年前就发现人的一些癌细胞表达的抗原与正常的胚胎组织有血清学交叉反应。AFP是一种糖蛋白分子，单链，相对分子质量为7×10^4。人的AFP虽然有部分按计算顺序与血清蛋白类似，但没有交叉的血清学反应。

（2）癌胚抗原。这种抗原最早发现于结肠癌病人的血清中及癌变组织中，疏松地结合在细胞膜表面，容易脱落，如结肠癌细胞产生癌胚抗原（Carcinoembryonic antigen，CEA）。癌胚抗原为糖蛋白，相对分子质量为1.8×10^5，含糖量约65%，正常人血清中含量只有5 μg/mL。但当胃肠道下部发生癌变时，CEA的含量会增高。

AFP和CEA是人类肿瘤中研究得最为深入的两种胚胎抗原，它们抗原性均很弱，因为曾在胚胎期出现过，宿主对之已形成免疫耐受性，因此不能引起宿主免疫系统对这种抗原的免疫应答。但作为一种肿瘤标志，通过检测肿瘤患者血清中AFP和CEA的水平，分别有助于肝癌和结肠癌的诊断。胚胎抗原是最早用于肿瘤免疫学诊断和免疫学治疗的靶抗原。由于个体发育过程中对此类抗原已形成免疫耐受，故难以诱导机体产生针对胚胎抗原的杀瘤效应。

（四）分化抗原

分化抗原是机体器官和细胞在发育过程中表达的正常分子。恶性肿瘤细胞通常停留在细胞发育的某个幼稚阶段，其形态和功能均类似于未分化的胚胎细胞，称为肿瘤细胞的去分化（Dedifferentiation）或逆分化（Retro－differentiation），故肿瘤细胞可表达其他正常组织的分化抗原，如胃癌细胞可表达ABO血型抗原，或表达该组织自身的胚胎期分化抗原。Melan－A、gp100和tyrosinase等属于此类抗原。

（五）过度表达的抗原

组织细胞发生癌变后，多种信号转导分子的表达量远高于正常细胞。这些信号分子可以是正常蛋白，也可以是突变蛋白，其过度表达还具有抗凋亡作用，可使瘤细胞长期存活。这类抗原包括ras、c－myc等基因产物。

第二节　抗肿瘤免疫的机制

从总体上看，肿瘤免疫的效应机制主要通过细胞免疫和体液免疫反应发挥作用，现分述如下。

一、免疫监视学说

免疫系统抗肿瘤的功能称为免疫监视。免疫监视与抗传染免疫及自身稳定的免疫机理既有相同之处，也有其独特之处。正常机体每天有许多细胞可能发生突变，并产生有恶性表型的瘤细胞，但一般都不会发生肿瘤，对此，Burner 提出了免疫监视学说，认为肿瘤得以在体内生长是由于免疫系统的监视功能减退以致不能清除突变细胞的结果。一些研究结果也支持这种观点，如神经母细胞瘤、肾上腺瘤等肿瘤有自发消退现象，提示机体免疫系统的功能状态对肿瘤的发生、发展有一定的影响。

肿瘤发生后，机体可通过免疫效应机制发挥抗肿瘤作用。机体抗肿瘤免疫的机制包括细胞免疫和体液免疫两方面，这两种机制不是孤立存在和单独发挥作用的，它们相互协作共同杀伤肿瘤细胞，其中以细胞免疫为主要方式，体液免疫通常起协同作用。对于大多数免疫原性强的肿瘤，特异性免疫应答是主要的，而对于免疫原性弱肿瘤，非特异性免疫应答可能具有更主要的意义。

二、抗体的免疫应答

在抗肿瘤免疫中，体液免疫不占主导地位。但致癌病毒引发的肿瘤能诱导免疫系统发生抗病毒抗原的应答，即产生抗体。抗体结合补体后的溶瘤作用，以及依赖抗体的细胞介导的细胞毒（ADCC）作用，是人们早已了解的抗肿瘤中的作用方式。其效应表现如下：

（1）B 细胞在抗肿瘤效应中有双重作用：①呈递肿瘤抗原。B 细胞可以捕捉、处理并呈递肿瘤释放的可溶性抗原 T 细胞，诱导 T 细胞对肿瘤的免疫应答。②分泌抗体。通过特异性抗体介导的肿瘤杀伤效应。

（2）参与抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用（ADCC）。这一作用不是依赖于补体。但要有免疫细胞的参与，即带有免疫球蛋白 Fc 受体的那些免疫细胞的参与，如巨噬细胞及 NK 细胞等。

（3）激活补体系统溶解肿瘤细胞。细胞毒性抗体（IgM）和某些 IgG 亚类（IgGl，IgG3）与肿瘤细胞结合后，可在补体参与下，溶解肿瘤细胞。

三、细胞免疫机制

抗肿瘤免疫是以细胞免疫为主，其中具有免疫记忆功能和特异性的主要是T细胞，因此，一直受到人们的重视，而非特异性抗肿瘤免疫细胞自然杀伤细胞（NK）和gdT淋巴细胞也日益受到人们的重视。

（一）T细胞

T细胞主要有两类，$CD4^+$ T辅助细胞和$CD8^+$T胞毒性T细胞。它们均表达CD3标志，主要产生特异性免疫。$CD4^+$ T细胞主要识别“专业性”APC经摄取、处理后的肿瘤抗原多肽，后者与MHC Ⅱ类分子结合后转移至细胞表面而呈递给T细胞，$CD4^+$ T细胞活化后释放大量细胞因子促进$CD8^+$T胞毒性T细胞、巨噬细胞（Φ）、B细胞活性。$CD8^+$ CTL也是在双重信号作用下被活化和克隆增值。已活化的细胞毒性T细胞在杀伤肿瘤的效应阶段则不需要共刺激分子的辅助。

目前研究认为，CTL有三种：$CD3^+$ $CD4^-$ $CD8^+$ TCRab、$CD3^+$ $CD4^+$ $CD8^-$TCRab和$CD3^+$$CD4^-$$CD8^-$TCRgd。其杀伤作用方式也有三种：① CTL与靶细胞接触产生脱颗粒作用，排出穿孔素（perferin）插入靶细胞膜上形成通道，而粒酶（Granzymes）、TNF、等效应分子进入靶细胞，导致其死亡。② CTL激活后表达FasL（Fas配体），它可被释放到胞外与靶细胞表面的Fas分子结合，传导死亡信号进入胞内，活化靶细胞内的DNA降解酶，引起靶细胞凋亡。激活白介素1b转换酶（ICE）或与ICE相关的蛋白酶，引起细胞凋亡。③上述两种方式共存。

$CD8^+$CTL是体内数量最多的CTL亚群，也是最主要的效应细胞。其杀伤活性约2/3来自于穿孔素途径，而Fas/FasL诱导PCD约占1/3。$CD4^+$ CTL在体内少于$CD8^+$CTL，对其细胞毒机制尚无统一认识，对于穿孔素和Fas/FasL诱导PCD途径既有支持证据，又有不支持的结果。

（二）NK细胞

NK细胞是细胞免疫中的非特异性成分，不需预先致敏即能杀伤肿瘤细胞，其杀伤作用无肿瘤特异性。来自于外周血的NK细胞不经活化即可杀伤某些肿瘤细胞，并且不受MHC限制。NK细胞杀伤瘤谱非常窄，只是对少数血液来源的肿瘤有效。如K562人红白血病细胞系是NK杀伤敏感细胞株，通常作为实验室测定NK活性的靶细胞。NK细胞的活性受活化性和抑制性受体所调节。NK细胞活化性受体（Killer - cell activatory receptor，KARs）包括FcRⅢ（属Ig超家族）和NKR - P1（存在于大鼠和小鼠中，属于C性凝集素超家族），分别结合靶细胞上的IgFc区域和糖基配体，触发NK细胞

的杀伤作用。人类NK细胞活化性受体尚无明确的分子。NK细胞抑制性受体（Killer-cell inhibitory receptor，KIRs），若与自身靶细胞上的MHC I类分子及自身多肽形成的复合物结合时，则关闭NK细胞的杀伤作用。而外来细胞上的MHC I类分子不能被NK细胞抑制性受体所识别，不能抑制NK细胞对其杀伤。

NK细胞释放的杀伤介质穿孔素、TNF等使靶细胞溶解破裂。NK细胞还可以通过人抗肿瘤抗体IgG1和IgG3作为桥梁，其Fab端特异性识别肿瘤，Fc段与NK细胞FcRgⅢa结合，产生抗体依赖的细胞介导的细胞毒（ADCC）作用，并且，IL-2和IFN-γ可增强该效应。

（三）巨噬细胞

巨噬细胞在抗肿瘤免疫中不仅是作为呈递抗原的APC，而且也是参与杀伤肿瘤的效应细胞。其杀伤肿瘤细胞的机制有以下几个方面：①活化的巨噬细胞与肿瘤细胞结合后，通过释放溶细胞酶直接杀伤肿瘤细胞；②处理和呈递肿瘤抗原，激活T细胞以产生特异性抗肿瘤细胞免疫应答；③巨噬细胞表面上有Fc受体，可通过特异性抗体介导ADCC效应杀伤肿瘤细胞；④活化的巨噬细胞可分泌肿瘤坏死亡因子（TNF）等细胞毒性因子间接杀伤肿瘤细胞。

第三节　肿瘤的免疫学检测

肿瘤的免疫学检测的主要目的是对肿瘤进行免疫学诊断和评估宿主的免疫功能状态。

一、肿瘤的免疫学诊断

（一）检测肿瘤抗原

这是目前最常用的肿瘤免疫学诊断法，如AFP的检测对原发性肝细胞性肝癌有诊断价值，CFA的检测有助于诊断直肠癌、胰腺癌等。但对于人类肿瘤特异性抗原的检测进展不大。

（二）检测肿瘤抗体

例如在黑色素瘤患者血清中可查到抗自身黑色素瘤抗体，在鼻咽癌和Burkitt淋巴瘤患者的血清中检测出EB病毒的抗体，且抗体水平的变化与病情的发展和恢复有关。

（三）肿瘤的放射免疫显像诊断

将放射性核素如I^{131}与抗肿瘤单抗结合后，从静脉注入体内或腔内注射

均可将放射性核素导向肿瘤的所在部位，用 γ 照相机可以显示清晰的肿瘤影像，目前已用于临床诊断，是一种有较好前景的肿瘤诊断新技术。

二、对肿瘤患者免疫功能状态的评估

一般肿瘤病人的免疫功能变化不大，晚期肿瘤病人免疫功能可受抑制，在治疗后免疫功能状态改善，表明治疗方法得当，患者生存期可延长。

第四节 肿瘤逃脱免疫系统的监视机制

机体虽然具有免疫监视功能，但肿瘤仍广泛出现，且常呈进行性发展。这是因为在体内存在肿瘤的免疫逃逸机制，阻碍和抑制了免疫系统对肿瘤的杀伤作用。其机制主要有以下几个方面：

一、肿瘤细胞的弱免疫原性

某些肿瘤在特殊的宿主体内免疫原性很弱，因为宿主不表达结合肿瘤抗原诱导的呈递过程所需的 MHC 分子。有一假说认为免疫应答基因能影响某些小鼠抵抗鼠白血病病毒的诱导而其他小鼠则不能。

二、T 细胞缺陷

长期以来，研究人员还发现肿瘤宿主的 T 细胞在体外对有丝分裂原的反应性降低，体内的迟发性超敏反应也降低。近些年来研究表明这是由于肿瘤宿主的 T 细胞缺陷所致。MHC 分子递呈的抗原肽与 T 细胞受体结合后需经 TCR/CD3 以及一系列信号传导系统，最后才能激活相关的基因而发挥生物学功能。CD3 分子由 g、d、e、z 和 h 五种链组成，与 TCR 共价连接，肿瘤患者 T 细胞 CD3 分子的 z 链常常表达下降，导致 T 细胞的活化障碍。

三、抑制性 T 细胞（Ts）

目前尚无证据表明 Ts 是 T 细胞的亚类。以前认为 Ts 属于 $CD8^+T$ 细胞，目前对抑制性 T 细胞的认识有所变化，也更加复杂化。它既可以是 $CD8^+T$ 细胞也可来自 $CD4^+T$ 细胞。一些 Ts 作用是抗原非特异性的，如 $CD4^+$ Th1 和 Th2 辅助性 T 细胞各自产生细胞因子非特异性地抑制对方。Ts 通过释放的可溶性 TCR、可溶性 IL－2 受体及免疫抑制因子抑制抗肿瘤免疫。Ts 也可以是高度抗原特异性的。

四、抑制性巨噬细胞

过渡活化的巨噬细胞可抑制淋巴细胞的增殖，抑制 NK 和 CTL 抗肿瘤活性。

五、抗原呈递功能障碍

研究表明荷瘤宿主外周血获得的抗原呈递专职细胞 DC 往往对抗原呈递有障碍。而取自荷瘤宿主骨髓细胞在体外与 GM - CSF、IL - 4、TNF - a 共同培养扩增的 DC 抗原呈递功能良好，表明肿瘤宿主的 DC 可能从骨髓释放到体内的成熟过程中受到了荷瘤宿主体内某些因素的干扰而削弱了对肿瘤抗原的呈递作用。

六、诱导免疫耐受

肿瘤细胞的可溶性抗原与血清中的抗体形成的免疫复合物，能作为一种耐受原信号，诱导免疫耐受性。少量的瘤细胞能刺激产生抑制性 T 细胞，诱导低剂量免疫耐受，当肿瘤细胞大量增殖，抗原过多时，则引起免疫麻痹。在癌症晚期，免疫功能衰竭即是证明。

第五节　肿瘤的免疫学治疗

肿瘤的免疫治疗是以激发和增强机体的免疫功能，以达到控制和杀灭肿瘤细胞的目的。免疫疗法只能清除少量的，播散的肿瘤细胞，对于晚期的实体肿瘤疗效有限。故常将其作为一种辅助疗法与手术、化疗、放疗等常规疗法联合应用。先用常规疗法清扫大量的肿瘤细胞后，再用免疫疗法清除残存的肿瘤细胞，可提高肿瘤治疗的效果。虽然目前已经建立了多种免疫方法，并在动物实验中取得了良好疗效，但当临床应用时受到的影响因素很多，其临床治疗的效果尚需进一步提高。

目前，肿瘤免疫治疗的方法有以下几种：

一、非特异性免疫治疗

是指应用一些免疫调节剂通过非特异性地增强机体的免疫功能，激活机体的抗肿瘤免疫应答，以达到治疗肿瘤的目的。例如：卡介苗，短小棒状杆菌，酵母多糖，香菇多糖，OK432 以及一些细胞因子如 IL - 2 等均属于此类。

二、主动免疫治疗

肿瘤的主动免疫治疗是指给机体输入具有抗原性的瘤苗，刺激机体免疫系统产生抗肿瘤免疫以治疗肿瘤的方法。该法应用的前提是肿瘤抗原能刺激机体产生免疫反应。此种方法对地手术后清除微小的转移瘤灶和隐匿瘤、预防肿瘤转移和复发有较好的应用效果。

目前治疗用瘤苗有以下几类：

（一）活瘤苗

由自体或同种肿瘤细胞制成，使用时有一定的危险性，较少用。

（二）减毒或灭活的瘤苗

自体或同种肿瘤细胞经过射线照射，丝裂霉素 C，高低温等处理可消除其致瘤性，保留其免疫原性与佐剂合用，对肿瘤的治疗有一定的疗效。

（三）异构的瘤苗

自体或同种肿瘤细胞经过碘乙酸盐，神经氨酸酶等修饰处理增强了其免疫原性，可作疫苗应用。

（四）基因修饰的瘤苗

将某些细胞因子的基因或 MHC I 类抗原分子的基因，黏附分子如 B7 基因等转移入肿瘤细胞后，可降低其致瘤性，增强其免疫原性，这种基因工程化的肿瘤苗在实验动物研究中，取得了肯定的效果，人体应用的前景尚待评价。

（五）抗独特型抗体

抗独特型抗体是抗原的内影像，可以代替肿瘤抗原进行主动免疫。目前已用于治疗 B 淋巴细胞瘤。

三、被动免疫治疗

肿瘤的被动免疫治疗是指给机体输注外源的免疫效应物质，由这些外源性效应物质在机体内发挥治疗肿瘤作用。目前主要有以下两大类：

（一）抗肿瘤导向治疗

利用高度特异性的单克隆抗体为载体，将细胞毒性的杀伤分子带到肿瘤病灶处，可特异地杀伤肿瘤细胞。目前根据所用的杀伤分子的性质不同，肿瘤的导向治疗可分为：①放射免疫治疗（Radioimmunotherapy），将高能放射性核素与单克隆抗体连接，可将放射性核素带至瘤灶杀死肿瘤细胞。②抗体

导向化学疗法（Antibody - mediated chemotherapy），抗肿瘤药物与单抗通过化学交联组成的史疫偶联物，可以将药物导向肿瘤部位，杀伤肿瘤细胞，常用的有氨甲蝶呤（MTX）、阿霉素等。③免疫毒素疗法（Immunotoxintherapy），将毒素与单克隆抗体相连，制备的免疫毒素对肿瘤细胞有特异性的强杀伤活性。常用的毒素有两类：一类是植物毒素，包括篦麻籽毒素（RT）、相思子毒素（abrin）。另一类是细胞毒素，包括白喉毒素（DT）、绿脓杆菌外毒素（PE）。

经过临床应用，单克隆抗体导向疗法取得了一定的治疗效果，但其存在的某些问题限制其临床应用和疗效提高。如单克隆抗体多为鼠源单克隆抗体，应用人体后会产生抗鼠源单克隆抗体的抗体，使其不能反复应用影响了其疗效。可用基因工程的方法将鼠源抗体人源化。

（二）过继免疫疗法

过继性免疫疗法（Adoptiveimmunotherapy）是把具有抗肿瘤活性的免疫血清或免疫细胞转输到免疫功能低下的肿瘤患者，在体内发挥抗肿瘤作用，以此达到治疗肿瘤的目的。

1. 淋巴因子激活的杀伤细胞

小鼠脾脏细胞或人外周血淋巴细胞在体外培养中，经高浓度的细胞因子（主要为 IL - 2）诱导后发生扩增，产生一类能非特异性地杀伤自身和异体肿瘤细胞的效应细胞，称为淋巴因子激活的杀伤细胞（LAK）。LAK 是一群异质性的细胞群，主要来源于外周血淋巴细胞，其表型既可是 CD_3^+ 细胞，也可是 CD_3^- 细胞，而且往往具有 NK 细胞样标记（CDl6 和 CD56），其杀伤肿瘤细胞不需要抗原致敏，也无 MHC 约束性，故认为 LAK 的前体细胞是 NK 细胞，但与 NK 细胞不同的是其生长和效应功能依赖于 IL - 2。

临床实验证明，单独应用 LAK 治疗肿瘤效果不佳，而与大剂量 IL - 2 联合应用，可有效地维持 LAK 活性，增强机体的免疫功能，对黑色素瘤、肾癌、结肠癌和淋巴瘤等具有一定疗效。但是大剂量 IL - 2 可引起血管通透性增高，导致液体滞留和间质水肿。

2. 肿瘤浸润性淋巴细胞

浸润于实体瘤内和周围淋巴结中，往往已被肿瘤抗原致敏而具有特异性抗肿瘤作用的一类细胞，被称为肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）。TIL 一般是从外科手术切除的瘤块和淋巴结中分离取得，也可从患者的胸、腹腔渗出液中获得。TIL 是一群异质性细胞，主要由 T 细胞组成，其次是 NK 细胞和 B 细胞，大多数表达 IL - 2R、HLA - DR 和黏附分子。TIL 比 LA/ < 具有更佳的增殖活性，对肿瘤细胞的杀伤特异性强、效率高。

目前在抗肝癌、黑色素瘤、肾癌、卵巢癌和肺癌等研究中发现，TIL 对肿瘤细胞的杀伤机制，除了有特异性的裂解作用外，主要依赖其释放的效应分子如 IL-2、穿孔素、TNF 等，并通过这些效应分子进一步激活机体免疫功能发挥抗肿瘤作用。据估计，小鼠中 TIL 的杀瘤效力比 LAK 强 50～100 倍，是一种具有较大潜力和应用前景的肿瘤治疗手段。

第三篇　免疫学检测技术

免疫学检测是根据抗原与抗体反应的原理，用已知的抗原或抗体检测未知的抗体或抗原的方法。目前免疫学检测技术的用途非常广泛，已经由医学深入发展到生命科学的许多领域。本篇只简述常规实验教学中应用的一些免疫学检测方法。

第十三章　免疫血清的制备和抗体的分离纯化

第一节　免疫血清的制备

血清学实验技术是免疫学检验中最常应用的一种技术，该技术的成功与否取决于免疫血清是否符合检验规程，免疫血清要求必须具有高度的特异性和高效价，这才能保证血清中的抗体用于下一步的实验操作。在制备免疫血清的过程中，由于应用的抗原种类、特性不同，对免疫血清的要求也不相同，所以其制备的方法也有差异，但是总的要求是特异性强和效价高。其具体的制备步骤如下：

一、抗原的选择

（一）抗原的种类

良好的抗原对于制备符合需求的高效价血清具有至关重要的作用，通常可以用于制备免疫血清的抗原主要包括：

（1）微生物抗原。即细菌、病毒、真菌、立克次氏体和螺旋体等，而且在医疗领域主要是以致病微生物作为抗原物质。

（2）组织抗原。主要是各种蛋白质、多糖、脂类等物质。

（3）转基因产物。它是适应现代生物技术发展起来的物质，外源基因在受体组织进行表达后，通过特定的方法提取表达产物，在体外进行动物免疫，产生相应的免疫血清，用于生物技术方向的检测。

（二）抗原的纯度和用量

对于细菌性抗原应该避免含有培养基成分，培养病毒的组织应该与被免疫的动物同种的组织，生长液也应该避免含有抗原性强的物质。抗原的用量取决于抗原的种类、剂型和注射途径。

二、动物的选择

实验室常用的免疫实验动物是家兔、豚鼠、羊或者鸡，生物制品所生产的商品用抗血清通常用马、牛等大动物，例如抗蛇毒免疫血清等。对免疫动

物的要求如下：

（1）与抗原的种属关系越远越好。

（2）健康，发育成熟，体重合乎实验要求。

（3）成年的雄性动物最佳。

三、免疫途径与方法

目前可以采用皮内、皮下、肌肉、静脉、腹腔和淋巴结等途径，目前，一般倾向于小剂量、多点和多途径的方法。动物免疫试验中，还经常采用足掌注射的途径，但是剂量通常不宜过大。注射次数可以分为一次和多次注射两种，一次注射，抗体产生的慢，效价低，但是特异性较高。如果采用多次注射，抗体产生的快，效价高，持续时间也较久，但是特异性较差，多次免疫需要注意间隔的时间，不同的抗原间隔的时间也不同。

四、佐剂的使用

1925 年法国免疫学家拉蒙（Gaston Ramon）发现在疫苗中加入某些与之无关的物质可以特异性地增强机体的免疫反应。这些物质后来被命名为佐剂。佐剂（Adjuvants）是先于抗原或者与抗原同时应用，能非特异性的改变或者增强机体对抗原的特异性免疫应答，增强相应抗原的免疫原性或者改变免疫反应类型，而本身并无抗原性的物质，也称为免疫佐剂或者抗原佐剂。

（一）传统常用的佐剂

（1）铝盐佐剂。它是一种含有 Al^{3+} 的无机盐，主要有 $Al(OH)_3$、$AlPO_4$ 等。铝盐佐剂的应用非常广泛，是现在唯一被 FDA 批准的人、兽均可以使用的佐剂。其作用机制是与抗原形成复合物，注射后可以在局部形成抗原贮存库，稳步的释放抗原。主要用于胞外繁殖的细菌及寄生虫抗原的良好免疫佐剂，可以有效的诱导激发体液免疫。

（2）油乳佐剂。主要含有油和乳化剂，作用机制是抗原包被在油相形成的微结构内，形成贮存库而缓慢释放，主要刺激机体免疫细胞产生抗体。目前常用的油乳佐剂有弗氏佐剂（Freund adjuvant，FA）、白油 Span 佐剂、MF259 和佐剂 - 65 等。弗氏佐剂分为弗氏完全佐剂（Freundcompleteadjuvant，FCA）和弗氏不完全佐剂（Freundin complete adjuvant，FIA）两种。FIA 是由低黏度的矿物油及乳化剂组成的一种贮藏性佐剂；而 FCA 是在 FIA 的基础上加入一定量的分枝杆菌组成的。FCA 是细胞免疫的强刺激剂，而 FIA 则仅能刺激体液免疫。白油 Span 佐剂采用轻质

矿物油做油相，用 Span－80 或者 Span－85 及 Tween－80 作为乳化剂制成的油乳佐剂，主要用于兽用生物制品中。

（3）微生物成分佐剂。是指应用微生物或者其菌体成分同抗原共同注射，具有明显的佐剂效应，主要包括分子杆菌及其成分，革兰氏阴性菌及其产物，革兰氏阳性菌等。

（4）脂质体。属于一种新型的免疫佐剂，由一层或者多层脂质双分子膜以同心圆的形式包封而成，兼具佐剂和载体的功能。其佐剂效应主要来源于接种局部的仓库效应，使抗原缓慢释放，向巨噬细胞有效呈递，通时增强机体的体液和细胞免疫应答。

（5）蜂胶。具有广谱的生物学活性，属于天然的免疫增强剂，与抗原配合应用后既能引起特异性免疫应答，又能启动非特异性防御机制。

（6）细胞因子。是近年来随着细胞因子的研究进展而发现许多细胞因子具有明显的佐剂效应，主要表现在可以增强机体的抗感染能力；增强疫苗的保护效应。例如 IL－1，可以增强对抗原的初次和二次反应。但是细胞因子由于半衰期短，易受机体其他因素的影响，其应用受到限制。

（二）新型佐剂

（1）CpG 佐剂。这是一类以 CpG 二核苷酸为核心的未甲基化的特殊的 DNA 序列。最初来源于微生物细菌，后来在脊椎动物和植物中也发现，但是胞嘧啶大部分被甲基化，而细菌的如果被甲基化，则会失去免疫刺激效应，所以 CpGDNA 的免疫刺激作用存在种属特异性。

（2）黏膜免疫佐剂。主要包括 CT 和 LT，CT 是霍乱弧菌分泌的一种不耐热的肠毒素；LT 是大肠杆菌产毒株合成的一种不耐热的肠毒素。CT 和 LT 经过口服和鼻腔接种途径都可以成为非常有效的佐剂。

五、采血及分离血清

固定好动物，禽类可以采用翅静脉或者心脏采血，家兔可以选取耳缘静脉或者心脏采血，血液置于试管、三角瓶中。待其凝固后将边缘剥离，37 ℃放置 2 h，然后 4 ℃离心，冷冻保存备用（内含有免疫球蛋白）。

第二节　抗体的分离纯化

机体抗体的含量代表着机体体液免疫的水平，并且进一步代表这 B 细胞的功能。因此，测定血清中免疫球蛋白的含量可以用于推测机体的体液免疫功能或者诊断某些疾病。分离纯化免疫球蛋白的方法很多，下面就实验室

常用的分离纯化方法——盐析法进行概述。

向蛋白质溶液中加入不同浓度的中性盐，可以把不同的蛋白质分别沉淀出来，这种方法叫做盐析。该种方法尽管达不到完全分离和提纯蛋白的目的，但是其操作方法简单，在血清蛋白的粗提中还是一种常用的方法。其主要原理在于蛋白质与水相遇时，蛋白质吸水，在蛋白质的外层形成水化膜，蛋白质颗粒之间不会再碰撞，蛋白质稳定存在于水溶液中，当遇到高浓度的中性盐时，盐类与水的亲和性明显高于蛋白质，与蛋白质争夺水分，破坏了蛋白质颗粒表面的水化膜，同时盐类均为强电解质，离子浓度相对也较高，可以中和蛋白质颗粒表面的电荷，这样使蛋白质成了既不含水膜又不带电荷的不稳定的颗粒而沉淀下来。具体的操作步骤如下：

一、中性盐类的选择

中性盐类主要包括硫酸铵、硫酸钠、硫酸镁等，常用的为硫酸铵。硫酸铵具有如下优点：在水中的溶解度大，其饱和溶液中含有大量的盐；在水中溶解度受温度的影响很小；硫酸铵一般不会引起蛋白质变性。缺点在于提取的 γ 球蛋白纯度较差，含有少量 α 和 β 球蛋白；溶液的缓冲力很差，pH 值约为 5.5，使用前需要根据要沉淀的蛋白质等电点调整 pH。

硫酸铵溶液的配置方法：称取 800 g 硫酸铵置于预先加热 70 ~ 80 ℃ 的约 1 000 mL 蒸馏水中，搅拌 20 min 后静置过夜，硫酸铵结晶体沉于瓶底，上清即为饱和硫酸铵，用氨水校正 pH 值到 7.0，置于 4 ℃ 冰箱中保存备用。

二、盐析的操作步骤

（一）稀释血清

通常起始蛋白质浓度为 2.5% ~ 3.0% 最为适宜，蛋白质浓度过高会影响沉淀极限，其他蛋白质容易与 γ 球蛋白发生共沉。同时，直接加高浓度的硫酸铵也容易使蛋白质变性，动物血清中蛋白质含量为 6% ~ 7%，所以通常采用生理盐水或者 PBS 进行稀释。

（二）50% 饱和硫酸铵提取球蛋白

按照血清 1 体积：生理盐水 1 体积的比例，逐滴加入饱和硫酸铵 2 体积，同时搅拌该混合体积，搅拌的目的是为了防止局部硫酸铵浓度过高，搅拌后室温放置 0.5 ~ 1 h，或者置于 4℃ 冰箱过夜，4 000 rpm 离心 30 min，离心后弃上清（内含白蛋白），沉淀物中含有 γ 和 β 球蛋白。因为分子量大的蛋白质先沉淀，分子量小的蛋白质后沉淀。球蛋白的分子量 20 万 ~ 30 万，而白蛋白的分子量只有 6.9 万，所以 50% 饱和度硫酸铵沉淀的是球蛋白，

而白蛋白则留在上清液中。

（三）33%饱和硫酸铵提取γ球蛋白

当硫酸铵饱和度由50%减少到33%～35%时，沉淀蛋白质中的α、β球蛋白和白蛋白的含量相应逐渐减少，而γ球蛋白的纯度逐渐提高，第三次沉淀时只含有少量的α、β球蛋白及白蛋白。用生理盐水或者PBS将沉淀物溶解，溶成原血清体积（1体积），向其中滴加饱和硫酸铵1/2体积，此时硫酸铵饱和度即为33%，边滴加边搅拌，4 ℃冰箱中静置0.5～1 h，4 000 rpm离心30 min，弃上清（α、β球蛋白），重复上述步骤2次，即可以获得较纯的γ球蛋白。

（四）脱　盐

免疫血清经过硫酸铵处理后，蛋白中通常含有硫酸铵，必须除去，实验室常采用透析法和葡聚糖凝胶过滤法两种。

（1）透析袋除盐法。半透膜具有使小分子或者离子透过而蛋白质分子不能通过的特性。将原血清蛋白用生理盐水溶解成原体积的10%～20%，加入透析袋内，排净空气后，扎好。用蒸馏水透析过夜，之后可以用氯化钡检验SO_4^{2-}，奈氏试剂检验NH_4^+。

（2）葡聚糖凝胶除盐。Sephadex－25或者Sephadex－50为细孔凝胶，可以排除所有蛋白质，而盐类可以自由出入，所以可以用于将蛋白质和盐类分成两个组分。

第十四章　抗原—抗体反应

抗原和抗体在体外可以发生特异性结合，出现凝集、沉淀等现象，对这些现象进行分析、观察可以鉴定抗原或者抗体。由于传统试验时需要血清作为实验材料，所以这种抗原抗体的实验方法常称为血清学反应或者血清学实验。但是目前随着单克隆抗体技术和抗体纯化技术的发展，抗体可以是免疫血清来源，所以以往的血清学实验目前已经涵盖在抗原抗体反应实验中。

第一节　凝集反应

凝集反应（Agglutination）是细菌、螺旋体和细胞等颗粒性抗原（完整的病原微生物或红细胞等）与相应的抗体特异的结合，在有适量电介质存在的条件下，经过一定时间，细菌、细胞凝集成肉眼可见的凝集小块，称为凝集反应。参与凝集反应的抗原称为凝集原，抗体称为凝集素。该法操作简单，已经广泛用于病原性细菌的鉴定和血清学诊断。可分为直接凝集反应（Direct agglutination）和间接凝集反应（Indirect agglutination）两类。

一、直接凝集反应

颗粒状抗原与相应抗体直接结合所出现的凝集现象，称为直接凝集反应。该法可以用已知抗体检测未知抗原，也可以用已知抗原检测未知的抗体。该法在实践中可以划分为玻片凝集法、试管凝集法和平板凝集法。

（一）玻片凝集法

检查和鉴定未知菌常用该种方法是一种定性试验方法，又称定性凝集实验。可用已知抗体来检测未知抗原。若鉴定新分离的菌种时，可取已知抗体滴加在玻片上，将待检菌液一滴与其混匀。数分种后，如出现肉眼可见的凝集现象，为阳性反应。该法简便快速，除鉴定菌种外，尚可用于菌种分型、测定人类红细胞的ABO血型等。

（二）试管凝集法

试管凝集法是一种定量试验的经典方法，多用于测定抗体，即可用已知抗原来检测受检血清中有无某种抗体及抗体的滴度，以协助临床诊断或供流行病学调查研究。操作时，将待检血清用生理盐水连续成倍稀释，然后加入

等量抗原，对最高稀释度仍然呈现明显凝集现象的血清最高稀释倍数，为血清的效价，也称滴度，以表示血清中抗体的相对含量。诊断伤寒、副伤寒病的肥达氏反应（Widal test）、布氏病的瑞特氏反应（Wright test）均属定量凝集反应。

（三）平板凝集法

适用于现地大量检疫之用，该法简便快速。主要在清洁的玻璃板上进行，将玻璃板划分成若干的小格，在每个小格中加入不同量的待检血清，然后加入等量的标准抗原，室温放置几分钟，按照反应出现的情况进行结果判定。

直接凝集反应在检查抗体方面有相当高的敏感性，操作简便，但是只适用于稳定的颗粒型抗原，在使用范围上受到相当大的限制，所以又开发出另外一种凝集反应方法，即间接凝集反应。

二、间接凝集反应

将可溶性抗原（或抗体）吸附在某些与免疫无关的具有一定大小的颗粒状载体的表面，与相应抗体（或抗原）结合。在有电介质存在的适宜条件下，即可发生凝集，这种借助载体的协助而发生的抗原抗体凝集反应称为间接凝集反应。用来吸附抗原或者抗体的载体很多，如人（O 型）和动物（绵羊、家兔、鸡等）的红细胞、活性炭、白陶土、某些细菌（如含 A 蛋白的金黄色葡萄球菌）、聚苯乙烯乳胶等。由于载体颗粒增大了可溶性抗原的反应面积，当颗粒上的抗原与微量抗体结合后，就出现肉眼可见的反应，敏感性比直接凝集反应高得多。目前在临床检验中应用广泛的是间接血凝试验，也称为血凝试验（Hemagglutinationtest），即以红细胞作为载体的间接凝集试验（见图 14－1），其中将抗原吸附在红细胞上用以检测微量的抗体，称为正向间接血凝；将抗体吸附在红细胞上，检测相应的抗原，称为反向间接血凝。

血凝实验操作过程如下：

（一）载体的制备

最常用的为绵羊、家兔、鸡的红细胞及人 O 型血的红细胞，红细胞是大小均一的载体颗粒，能吸附多糖类抗原但吸附蛋白质抗原或抗体的能力较差。用新鲜红细胞做间接血凝，不但红细胞凝集的模型新鲜、典型，而且敏感性也好，但是致敏的新鲜红细胞保存时间短，且易变脆、溶血和污染，只能使用 2～3 d，而且不同批次和不同个体的细胞具有一定的差异，使得实验结果不一致，影响结果的分析。为此一般在致敏前先将红细胞醛化，以固定

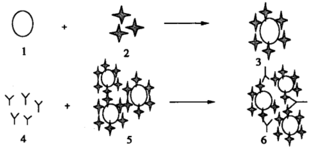


图 14－1 间接凝集实验原理

1. 红细胞；2. 抗原；3，5. 致敏的红细胞；4. 待检抗体；6. 凝集的红细胞

红细胞，可长期保存而不溶血，对它的致敏特性没有明显的影响。常用的醛类有甲醛、戊二醛、丙酮醛等。红细胞经醛化后体积略有增大，两面突起呈圆盘状。醛化红细胞具有较强的吸附蛋白质抗原或抗体的能力，血凝反应的效果基本上与新鲜红细胞相似。如用两种不同醛类处理效果更佳。也可先用戊二醛，再用鞣酸处理。醛化红细胞能耐 60 ℃加热，并可反复冻融不破碎，在 4 ℃可保存 3～6 个月，在 －20 ℃可保存一年以上。

（二）致　敏

致敏用的抗原或抗体要求纯度高，并保持良好的免疫活性。用蛋白质致敏红细胞的方法有直接法和间接法。直接法只须在低 pH、低离子浓度下，用醛化红细胞直接吸附即可。间接法则需用偶联剂将蛋白质结合到红细胞上。常用偶联剂为双偶氮联苯胺（Bidiazotizedbenzidine，BDB）和氯化铬。前者通过共价键，后者通过金属阳离子静电作用使蛋白质与红细胞表面结合而达到致敏的目的。

（三）结果判定

可在血清反应板中进行，目前常用的是 96 孔板，有尖底的（V 型）和圆底的（U 型），V 型板常用于血凝实验，具有更典型的凝集终点。将标本倍比稀释，一般为 1:64，同时设不含标本的稀释液对照孔。在含稀释标本 1 滴的板孔（或试管）中，加入 0.5% 致敏红细胞悬液 1 滴，充分混匀，置室温 1～2 h，即可观察结果。凡红细胞沉积于孔底，集中呈一圆点的为不凝集（－）。如红细胞凝集，则分布于孔底周围。根据红细胞凝集的程度判断阳性反应的强弱，以 ＋＋凝集的孔为滴度终点。

第二节　沉 淀 反 应

可溶性抗原（如细菌浸出液、含菌病料浸出液、血清和其他来源的蛋

白质、多糖、类脂体）与其相应的抗体相遇，在适量电解质参与下，抗原抗体结合形成肉眼可见的白色沉淀线，该种现象称为沉淀反应（Precipitation reaction），沉淀反应中的抗原称为沉淀原（Precipitionogen），与沉淀原发生反应的抗体称为沉淀素（Precipitin）。沉淀反应的发生机制与凝集反应基本相同，是临床常用的基本检测方法之一，沉淀原分子小，单位体积内总面积大，所以在定量试验时，通常稀释抗原。沉淀反应的种类很多，下面主要讲述实验室常用的环状沉淀实验（Ring test）、琼脂扩散实验（Agar diffusion test）。

一、环状沉淀实验

环状沉淀实验法是 Ascoli 于 1902 年首先提出的，是最早的沉淀反应，主要用于链球菌的分类、鉴定，昆虫吸血性能及所吸血液来自何种动物的鉴别，肉品种属鉴定及兽医上炭疽尸体和皮张的检验工作中仍然应用。主要是用已知的抗体诊断未知的抗原。

将含有高浓度已知的特异性抗体加入特制的沉淀反应小口径管内（2～2.5 mm），再沿管壁缓慢加入已经适当稀释的抗原溶液，不可混合，不要破坏液面，使两种液面形成清晰地界面，室温下静置数分钟后，可以判定结果。如果抗体与抗原具有特异性，在血清和抗原的接触面上出现一个清晰、薄层、整齐的白色沉淀环，就可以判断为阳性反应。

二、琼脂扩散实验

琼脂扩散实验技术是 1905 年由 Bechnold 发明的，是抗原抗体在琼脂凝胶内扩散，特异性的抗原抗体相遇后，在凝胶内的电解质参与下发生沉淀，形成可见的沉淀线，该种反应称为琼脂扩散实验。该反应中使用的凝胶种类很多，除琼脂外还有明胶、果胶、聚丙烯酰胺等，所以该类反应统称为免疫扩散，琼脂扩散是其中的一种。琼脂扩散的原理在于物质自由运动形成扩散现象，扩散可以在各种介质中进行。当使用 1%～2% 的琼脂凝胶时，琼脂形成网状构架，空隙中 98%～99% 是水，扩散就在水中进行。1%～2% 琼脂所形成的构架网孔较大，允许分子量在 20 万以下甚至更大的大分子物质通过，绝大多数可溶性抗原和抗体的分子量在 20 万以下，所以可以在琼脂凝胶中自有扩散，所受阻力甚小。二者在琼脂凝胶中相遇，在最适比例处发生沉淀，该沉淀物因颗粒较大而不扩散，故形成沉淀带。一种抗原抗体系统只出现一条沉淀带，复合物抗原中的多种抗原抗体系统均可根据自己的浓度，扩散系数，最适比例等因素，形成自己的沉淀带。该法的主要优点是能

将复合的抗原成分加以区分，根据沉淀带出现的数目、位置及相邻两条沉淀带之间的隔合、交叉、分枝等情况，即可了解该复合抗原的组成。琼脂扩散试验按照可根据抗原抗体反应的方式和特性分为单向免疫扩散、双向免疫扩散、免疫电泳、对流免疫电泳、单向及双向火箭电泳实验等。

（一）*单向免疫扩散试验*（Single immunodiffusion test）

将抗体与琼脂混合，浇注于玻片或平皿上，凝固后在琼脂上打孔，再将抗原标本加入孔内，抗原边扩散边与琼脂中的抗体结合，一定时间后，在两者比例适当处形成白色沉淀环，沉淀环的直径与抗原的浓度成正比。将不同浓度的抗原制成标准曲线，则未知标本中的抗原含量即可从准标曲线中求出。本试验是一种定量检测抗原的方法，主要用于检测血清中各种免疫球蛋白和补体成分的含量，敏感性很高。

（二）*双向免疫扩散试验*（Double immunodiffusion test）

抗原和抗体加到琼脂板上相对应的孔中，两者各自向四周扩散，如两者具有特异性，浓度比例合适，则一定时间后，在抗原、抗体孔之间出现清晰致密的白色沉淀线。沉淀线的位置和外形与反应物的浓度和分子量有关，如果抗体浓度大与抗原浓度，则沉淀线靠近抗原；如果浓度适当，则沉淀线位于两者之间。每一抗原与其相对应抗体只能形成一条沉淀线，若同时含有若干对抗原抗体系统，因其扩散速度的不同，可在琼脂中出现多条沉淀线。当抗原完全不同时，则沉淀线出现交叉，这是由于两条沉淀线互不影响对方的扩散；如果抗原部分相同，则沉淀线出现部分融合，部分交叉，沉淀线吻合处多出一个小刺。所以根据沉淀线融合情况，可用此法来分析和鉴定标本中多种抗原或抗体成分，并用以测定抗原或抗体的效价。

具体实验操作步骤（本研究室实验程序）：

1. 实验材料

鸡血清 IgG，兔抗鸡血清 IgG，琼脂粉，生理盐水、载玻片，打孔器（直径 3 mm）、吸管、带盖的方盘（内含湿纱布）、微量移液器等。

2. 操作方法

（1）取一块预先用75%乙醇浸泡的载玻片，晾干后置于实验台上。

（2）用0.9%生理盐水配制1.0%琼脂，微波炉煮沸熔化，56 ℃水浴中保温，用吸管吸取约4 ml浇注于载玻片上，制成琼脂板。

（3）琼脂凝固后，用打孔器打孔，并用7号针头挑去孔中琼脂（孔距为5 mm)。

（4）在中央孔中加鸡血清 IgG（抗原），周围孔中加入二倍稀释的兔抗鸡血清 IgG（1:2，1:4，1:8，1:16，1:32 的不同浓度），设立阳性对照孔。

注意加样时勿使样品外溢或在边缘残存小气泡，以免影响扩散结果。（打孔及加样方式见图 14 - 2）。

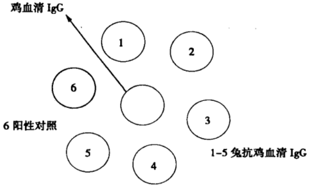


图 14 - 2　双向琼脂扩散打孔和加样

（5）将加好样品的琼脂板置于方盘内，于 37 ℃温箱内放置 24 ~ 48 h。

3．结果观察

若凝胶中抗原抗体是特异性的，则形成抗原—抗体复合物，在两孔之间出现一清晰致密白色的沉淀线，为阳性反应。若在 72 h 仍未出现沉淀线则为阴性反应。实验时至少要做一阳性对照。出现阳性对照与被检样品的沉淀线发生融合，才能确定待检样品为真正阳性。

4．结果分析

要注意观察孔间沉淀线的数目与特征，通常具有以下几种现象：

（1）抗原与抗体孔间形成一条沉淀线，表明只有一种抗原与相对应的抗体特异性结合，如果出现数条沉淀线，证明有几组不同的抗原和相对应抗体相结合（见图 14 - 3）。

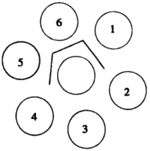


图 14 - 3　单一抗原抗体系统沉淀线形成

（2）根据抗原的成分可有以下三种现象：①若二孔中的抗原相同，与

相应抗体形成的沉淀线融合成弧形。②若二孔中抗原不同，当抗血清中分别含有与抗原相应的抗体时，则形成的沉淀线相交叉。③若两孔中抗原部分相同，抗血清中有各相应的抗体，形成的沉淀线相切。

（3）相应抗原抗体所形成的沉淀线，如二者浓度相当，沉淀线在孔中央，二者浓度不当时，则沉淀线偏向浓度低的一侧。

（4）温度对沉淀线的影响：在一定范围内，温度扩散快。通常反应在 0 ~37 ℃下进行。在双向扩散时，为了减少沉淀线变形并保持其清晰度，可在 37 ℃下形成沉淀线，然后置于室温或冰箱（4 ℃）中为佳。

（5）琼脂浓度对沉淀线形成速度的影响：一般来说，琼脂浓度越大，沉淀线出现越慢。

（6）参加扩散的抗原与抗体间的距离对沉淀线形成的影响：抗原、抗体相距越远，沉淀线形成的越慢，所以在微量玻片法时，孔间距离以 0.25 ~0.5 cm 为好，距离远影响反应速度。当然孔距过远，沉淀线的密度过大，容易发生融合，有碍对沉淀线数目的确定。

（7）时间对沉淀线的影响：沉淀线形成一般在 1 ~3 d 出现，14 ~21 d 出现的数目最多。玻片法可在 1 ~2 h 出现，一般观察 72 h，放量过久可出现沉淀线重合消失。

（三）火箭免疫电泳（Rocket immunoelectrophoresis，RIEP）

火箭免疫电泳是将单向免疫扩散和电泳相结合的一种定量检测技术。将适当浓度的抗体与琼脂混合，制备琼脂凝胶板。在琼脂板的一侧打一排小孔，加入待检抗原和标准的对照抗原。电泳时，琼脂凝胶中的抗体不发生移动，而在电场的作用下样品中的抗原向阳极泳动（见图 14 -4）。当抗原与

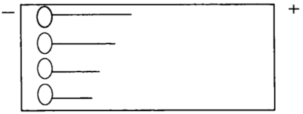


图 14 -4　火箭免疫电泳打孔

抗体分子在凝胶中相遇，在最适当比例处形成沉淀。因为抗原向单一方向移动，沉淀区域呈锥形，形状如火箭，峰的高度与检样中的抗原浓度呈正比。因此，当琼脂中抗体浓度固定，以不同稀释度稀释标准抗原泳动后形成的沉淀峰为纵坐标，抗原浓度为横坐标，绘制标准曲线。根据样品的沉淀峰长度

即可计算出待检抗原的含量；反之，当琼脂中抗原浓度固定时，便可测定待测抗体的含量（即反向火箭免疫电泳）。

（四）对流免疫电泳（Counter immunoelectrophoresis，CIEP）

对流免疫电泳是将双向免疫扩散与电泳相结合的一种技术，即抗原抗体在凝胶中同时进行电泳的一种定性或者半定量的方法。其原理为，在 pH 值为 8. 6 的琼脂凝胶中，抗体因等电点高只带有微弱的负电荷，故解离很少。另外，由于其分子量大，在琼脂中泳动缓慢，受电渗作用的影响大，所以电泳时向负极泳动。而蛋白质抗原常带有较强的负电荷，分子又小，所以泳动快，在电场中向正极泳动；如将抗原置阴极，抗体置阳极，电泳时两种成分相对泳动，一定时间后抗原和抗体将在两孔之间相遇，并在最适比例处形成乳白色沉淀线（见图 14 -5）。

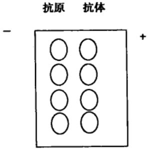


图 14 -5 对流免疫电泳打孔方式

第十五章 免疫标记技术

免疫标记技术是将抗原—抗体反应和标记技术结合起来用以检查抗原或抗体的一种实验方法。通常采用荧光素、放射性同位素、酶、铁蛋白、胶体金及化学（或生物）发光剂等作为标记物，借助于荧光显微镜、射线测量仪、酶标检测仪等精密仪器，对实验结果镜检观察或进行自动化测定，对抗原抗体反应进行定性和定位研究。近年来，随着分子生物学、基础免疫学和免疫化学等学科的发展以及仪器分析技术的应用，免疫标记技术也不断完善和发展，已成为一类检测微量和超微量生物活性物质的免疫生物化学分析技术，在医学和其他生物学科的研究领域及临床检验中应用十分广泛。根据试验中所用标记物的种类和检测方法不同，免疫标记技术分为免疫荧光技术、放射免疫技术、免疫酶技术、免疫电镜技术、免疫胶体金技术和发光免疫测定等。

第一节 免疫酶技术

免疫酶技术（Immunoenzymatic technique）是将抗原和抗体的特异性结合与酶对底物的高效催化作用相结合的一种标记技术，酶标记抗原或抗体后形成的酶标记物，既保留抗原或抗体的免疫活性，又保留了酶的催化活性。当酶标记物与待检标本中相应的抗原或抗体相互作用时，可形成酶标记抗原抗体复合物。利用复合物上标记的酶催化无色的底物显色，其颜色的深浅与待检标本中抗原或抗体的量相关。

在酶免疫技术中引进放大系统，使测定的灵敏度达到 10^{-19}mol/L，优于放射免疫测定，更重要的是没有放射性污染。常用的酶包括辣根过氧化物酶（Horseradish peroxidase，HRP）和碱性磷酸酶（Alkalinephos phatase，AKP）。免疫酶技术在方法上分为两大类，一类是用于检测生物组织或者细胞中的抗原、抗体或者其他成分，称为酶免疫组织化学技术；另一类用于检测生物体液和组织培养液中的抗原、抗体或其他成分，称为酶免疫测定法，酶免疫测定法包括固相和液相两种，其中比较常用的是酶联免疫吸附试验。下面我们将重点讲述该实验技术的原理及相关操作。

酶联免疫吸附试验（Enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）是酶

免疫技术中应用最广的一种，是根据酶免疫测定原理发展的一种固相免疫酶技术。其原理是：抗原或抗体结合到合适的固相载体表面仍保持免疫活性；抗原或抗体与酶结合形成的结合物仍保持其免疫活性和酶活性；结合物与相应抗体或抗原反应后，免疫复合物上标记的酶在遇到相应底物时，可以催化底物水解、氧化还原，从而产生有色物质，其颜色的深浅与相应的抗体或抗原有关。ELISA 可用于测定抗原，也可用于测定抗体。ELISA 的技术类型很多，现仅将常用的间接法、双抗体夹心法和竞争法简介如下。

一、间接法

间接法是检测血清中抗体最常用的方法，也可检测抗原。将已知抗原吸附（偶联、包被）在固相载体（微量反应板等）上，37 ℃水浴保温 3 h 或者4 ℃ 24 h，洗去未吸附的抗原，然后加入待检血清（抗体），37 ℃或者室温 1.5 h，洗去过剩的血清，再加入酶标记的抗球蛋白抗体（即抗抗体），37 ℃ 1 h 或者室温 2 h，最后加入底物溶液，底物被分解，供氢体被氧化而显色。用酶标仪测定溶液的颜色深度，从而推测待检测的血清抗体含量。本法只要更换不同的固相抗原，可以用一种酶标抗抗体检测各种与抗原相应的抗体（见图 15－1）。

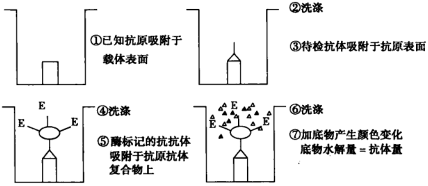


图 15－1 间接法示意图

二、双抗体夹心法

双抗体夹心法是检测标本中大分子抗原最常用的方法。将已知抗体吸附在固相载体上，37 ℃水浴保温 3 h，洗去未吸附的抗体；加入待检抗原，37 ℃水浴保温 30 min，使抗原抗体相结合形成免疫复合物；洗去过量的抗原，加入酶标记的抗体（与吸附到固相载体上的抗体为同一抗体），37 ℃水

浴保温 1 h 或者室温 2 h，感作后洗涤，加入底物溶液，颜色的改变与待检样品中抗原量成正比（见图 15－2）。

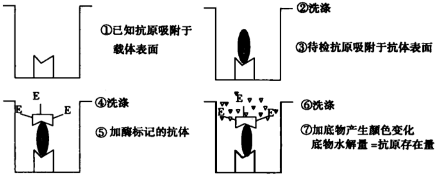


图 15－2　双抗体夹心法示意图

三、竞争法

竞争法可用于测定抗原，也可用于测定抗体。以测定抗原为例，将含特异性抗体的免疫球蛋白吸附在固相载体上，孵育后冲洗，于相同两分载体 a 和 b 上分别加入：a. 酶标记抗原和未知抗原（待检测抗原）；b. 酶标记抗原。孵育后冲洗，分别加入底物。在未知溶液中，抗原越多，则标记的抗原将吸着的越少，a 与 b 底物水解量之差的程度标志着抗原量得多少（见图 15－3）。

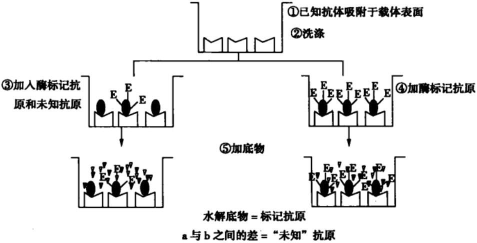


图 15－3　竞争法

第二节　免疫荧光技术

1941年，美国病理学家Coons和Greech首先报道了利用荧光素标记抗体，第二年，Coons成功地利用荧光标记抗体检出了动物组织中的肺炎双球菌，为荧光抗体法奠定了基础。由于当时所用荧光素的合成及质量都有问题，所以没有得到应用和推广。直到1958年Riggs和Coons等合成了异硫氰酸荧光素（Fluorescein isothiocyanate，FITC）以后，这一技术才得到迅速的推广和广泛的应用，目前常用的荧光素除了FITC还有四乙基罗丹明及四甲基异硫氰酸罗丹明。

免疫荧光技术又称荧光抗体技术，是将免疫反应的特异性与荧光技术的敏感性及显微术的精确性相结合的免疫标记技术。将抗体（或抗原）与荧光染料相结合，成为荧光抗体（或者抗原），用该荧光抗体（或抗原）做染色剂，对检测标本中的未知抗原进行检测，如果抗原抗体是特异性的，则在局部形成荧光素标记的抗原抗体复合物，可借助荧光显微镜观察呈现荧光的抗原抗体复合物及其存在部位。近年来，免疫荧光技术已从原来仅限于固定标本，检测组织切片或细胞表面抗原或血清中抗体的定性检测，扩大到活细胞分类检测及多种成分的定量检测。免疫荧光技术的基本方法有三种：直接法、间接法和抗补体法。

一、直接法

该法是荧光抗体技术最简单和基本的方法。首先制备荧光抗体，然后滴于待检标本片上，反应一段时间后洗涤，然后在荧光显微镜下观察。标本中如有对应抗原存在，即与荧光抗体特异结合，在荧光显微镜下可见有荧光的抗原抗体复合物。该法的优点是简单、需要时间短、特异；缺点是检查每种抗原均需制备相应的特异性荧光抗体，且敏感性低于间接法（见图15-4）。

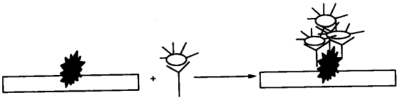


图15-4　直接免疫荧光技术

Ab + 荧光色素 ⟶ Ab * （荧光标记的抗体）

Ag + Ab * ⟶ Ag. Ab * （特异荧光）

二、间接法

该法涉及两对抗原抗体系统，第一对是被检的抗原与与相应的抗体；第二对是抗体和相应的抗球蛋白荧光抗体（荧光抗抗体）。首先将待测抗体（第一抗体）加在含有已知抗原的标本片上作用一定时间以后，洗去未结合的抗体。然后，加上标记了荧光素的抗抗体。如果第一步中的抗原抗体已发生结合，此时加入的标记抗抗体就和已固定在抗原上的抗体（一抗）分子结合，形成抗原—抗体—标记抗抗体复合物，并显示特异荧光。由于血清球蛋白有种属特异性，因此，标记的抗球蛋白抗体必须用与第一步的抗体同种动物的血清球蛋白免疫动物来制备。该法的优点是既能检查未知抗原，也能检查未知抗体；用一种标记的抗抗体，能与所有在种属上相应的抗体结合，检查各种未知抗原或抗体；敏感性也高于直接法。缺点是由于参加反应的因素较多，受干扰的机会多，有非特异性荧光出现（见图 15－5）。

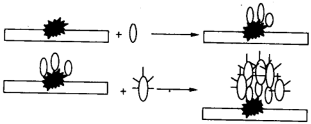


图 15－5　间接免疫荧光技术示意图

三、抗补体法

是利用补体结合反应的原理，用荧光色素标记抗补体，检查未知抗原或者抗体。具体操作可以分两步进行：首先将未标记的抗体和补体与抗原结合，作用一定时间后水洗；然后加入标记的抗补体抗体。如果抗原抗体是特异性的，则发生特异性结合反应，补体被抗原抗体复合物所固体，加入标记的抗补体发生特异性反应，检查时会出现特异荧光。该法具有独特的优点，即只需一种标记的抗补体抗体，就可以检查所有的抗原抗体系统，而不管已知抗体或未知抗体的动物种别，因为补体可被任何哺乳类的抗原抗体系统所固定。缺点是容易出现非特异性染色，而且补体不稳定，不容易较长时间的保存（见图 15－6）。

$$Ag + Ab \longrightarrow Ag.\ Ab$$

$$Ag.\ Ab + Gab* \longrightarrow Ag.\ Ab.\ Gab*$$

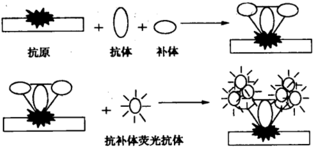


图 15－6 抗补体免疫荧光技术示意图

第十六章 细胞免疫检测技术

免疫学检测技术不仅包括抗体、补体和细胞因子等分子水平的检测，还应该包括各类免疫细胞的检测，前面几章我们讲述了血清中抗体的检测技术，本章将重点讲述免疫细胞的检测技术，具体包括玫瑰花环试验和淋巴细胞转化试验。

玫瑰花环试验：玫瑰花环试验是体外检测人类和动物免疫活性细胞表面标志，进而测定免疫活性细胞数量和功能的一系列实验方法。20 世纪 70 年代初，Coombs 等在研究人的外周淋巴细胞的受体时，发现了绵羊红细胞受体，在体外可以结合绵羊红细胞形成玫瑰花样的花环，称为 E 玫瑰花环，E 是红细胞的缩写。之后陆续发现许多动物的淋巴细胞与异种动物红细胞能够形成玫瑰花环。它主要包括检测 T 淋巴细胞的 E 玫瑰花环试验；还有检测 B 细胞的 EA 玫瑰花环和 EAC 玫瑰花环试验等。

第一节 E 玫瑰花环

一、概念及分类

人和动物的 T 淋巴细胞表面具有红细胞受体，可以与同种或者异种动物的红细胞结合，红细胞包围在 T 细胞表面，在显微镜下呈玫瑰花环状，称为 E 玫瑰花环。B 淋巴细胞则没有红细胞受体，所以不能形成 E 玫瑰花环，可以用于鉴别 T 和 B 淋巴细胞。E 玫瑰花环实验的类型很多，常见的有总 E 花环、活性 E 花环、稳定性 E 花环以及巨大 E 花环等（见图 16－1）。

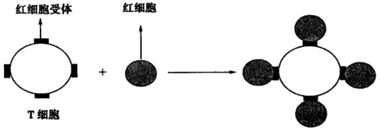


图 16－1 E 玫瑰花环

二、具体实验操作步骤

(一) 分离淋巴细胞

可以采用静脉或者心脏采血，使用恰当的抗凝剂，常用的有肝素、乙二胺四乙酸二钠、枸橼酸纳等。分离淋巴细胞时可以采用淋巴细胞分离液，吸出白细胞后，用生理盐水进行洗涤，然后用细胞培养用的 Hanks 液制备成细胞悬液。

(二) 红细胞悬液的制备

采血后用生理盐水洗涤，置于阿氏液中，4 ℃冰箱保存，可以保存至少一周。

(三) 实验方法

通常用相同体积的淋巴细胞悬液和红细胞混匀，37 ℃水浴 5 min，再置于4 ℃ 1 ~2 h，取出后轻轻摇匀，取 1 滴于细胞计数池内，直接镜检计数。

第二节　EAC 和 EA 玫瑰花环试验

一、概念及分类

B 淋巴细胞表面带有许多表面标志，其所形成的花环试验可以分为 EAC 和 EA 玫瑰花环试验。首先 B 淋巴细胞存在补体受体，可以和 C3 结合；EAC 玫瑰花环试验中 E 表示红细胞，A 表示红细胞抗体，C 表示补体，红细胞可以和相应的抗体结合形成免疫抗原抗体复合物（EA），EA 可以通过经典途径激活补体生成活化的 C3，然后 EA 与 C3 结合形成 EAC 复合物，EAC 上的 C3 和 B 细胞等细胞上的补体受体结合时，EAC 可以围绕在 B 细胞周围形成花环。B 淋巴细胞具有补体受体，而 T 淋巴细胞没有补体受体，所以 EAC 玫瑰花环试验可以用于鉴别 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞（见图 16 –2）。

其次 B 淋巴细胞表面还存在 Fc 受体，能与免疫球蛋白的 Fc 段结合，因此用抗体致敏的鸡红细胞与 B 淋巴细胞混合，可见 B 淋巴细胞周围黏附有鸡红细胞形成花环。该实验主要用于检测外周血 B 淋巴细胞的百分率，有助于免疫缺陷病、淋巴细胞增生性疾病的病因诊断及疗效观察（见图 16 –3）。

二、具体实验操作

(一) 红细胞的制备

EAC 玫瑰花环试验通常选用细胞膜上没有补体受体的红细胞，以鸡的

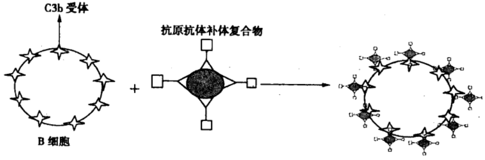


图 16-2 EAC 玫瑰花环

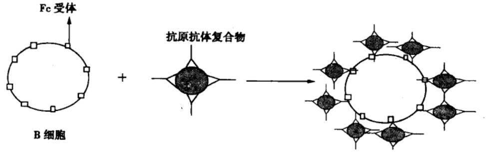


图 16-3 EA 玫瑰花环

红细胞最为常用制备方法与前面的相同。

（二）抗红细胞抗体

制备兔抗鸡红细胞抗体是最常选择的红细胞抗体，抗体效价达到1:2 000以上时即可应用。EAC 花环试验中的抗体是 IgM，所以制备的血清要经过纯化，提取出 IgM 抗体。

（三）补体的制备

小鼠和豚鼠血清最常用，采用图常规分离血清方法即可以。

（四）具体实验操作

与 E 玫瑰花环形成试验相同。

第三节 淋巴细胞转化试验

一、概 述

淋巴细胞转化试验是体外检测 T 淋巴细胞功能的一种方法。将抗原或者有丝分裂原与 T 淋巴细胞在体外共培养时，细胞的代谢和形态会发生一

系列变化，细胞体积增大，蛋白质和核酸的合成增加，转化为可以分裂的淋巴母细胞，该实验称为淋巴细胞转化试验，转化率的高低，能够反映机体的免疫功能状态。目前常用的T淋巴细胞刺激物是植物血凝素。操作方法涉及形态学方法和3H－TdR掺入法，前者可以测定转化的淋巴母细胞百分率，后者可以测定3H－TdR掺入细胞内的相对数量，从而确定T细胞转化率。我们简单介绍形态学方法。

二、形态学检查法

计算标准：

$$\text{淋巴细胞转化率（\%）}=\frac{\text{转化的淋巴细胞数（过渡型+母细胞）}}{\text{淋巴细胞总数（转化型、过渡型及未转化型）}}\times 100\%$$

重点要掌握淋巴母细胞的形态学标准，通常根据细胞的大小、核与浆的比例、核结构及核仁的有无等特征进行确定。

典型的转化成的淋巴母细胞体积较大，有的可达20 μm以上，圆形或椭圆形。胞浆常有伪足突出，嗜碱性强，常有空泡。胞核增大，核质疏松呈细丝网状或颗粒结构。多数母细胞可见1～3个核仁。过渡型细胞，体积稍大，多在12～16 μm之间，胞浆稍多，染色偏碱，核染色质疏松呈细粒状，常无明显的核仁。这类过渡型细胞也应列入转化细胞内。

参考文献

[1] 周光炎. 免疫学原理［M］. 上海：上海科学技术出版社，2007.

[2] 何球藻，吴厚生. 医学免疫学［M］. 上海：上海医科大学出版社，1997.

[3] 王重庆. 分子免疫学基础［M］. 北京：北京大学出版社，1997.

[4] 龚非力. 医学免疫学（第二版）［M］. 北京：科学出版社，2004.

[5] 杜念兴. 兽医免疫学（第二版）［M］. 北京：中国农业出版社，2000.

[6] 王世若，王兴龙，韩文愈. 现代动物免疫学（第二版）［M］. 长春：吉林科学技术出版社，2001.

[7] Charles A. Janeway, Paul Travers, Mark Walport, Mark J. Shlomchik. IMMUNOLOGY 6th edition [M], Garland Science Publishing, 2004.

[8] 徐百万. 动物免疫采样与检测技术手册［M］. 北京：中国农业出版社，2007.

[9] 于善谦. 免疫学导论［M］. 北京：高等教育出版社，施普林格出版社，1999.

[10] 杨汉春. 动物免疫学［M］. 北京：中国农业大学出版社，2003.

[11] 金伯泉. 细胞和分子免疫学（第二版）［M］. 北京：科学出版社，2001.